

序 文

本文目次

Bone & Joint Research Update

No. 60
August
2016

監修 折茂 肇



監修

折茂 肇

公益財団法人 骨粗鬆症財団 理事長

顧問

松本 俊夫

徳島大学 藤井節郎記念医科学センター 顧問

編集

福本 誠二

徳島大学 藤井節郎記念医科学センター 特任教授

中島 友紀

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学 分野長 教授

宗圓 聰

近畿大学医学部奈良病院 整形外科・リウマチ科 教授

杉本 利嗣

島根大学医学部内科学講座 内科学第一 教授

田中 栄

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 感覚運動機能医学講座整形外科学 教授

米田 俊之

米国インディアナ大学医学部 血液・腫瘍学部門 教授
大阪大学大学院歯学研究科 生化学教室 特任教授(非常勤)

(ABC順)

本書は、PubMed (2016年12月～4月)に登録された論文の中より、骨代謝およびリウマチ領域研究の注目すべき論文を選択し、その要旨をご紹介します。

なお、本書は出版社および著者より特別の許可を得ていますが、この出版物のいかなる部分または全体を複製することは禁じられています。論文の詳しい内容や文献として引用される場合には、必ず原著論文をお読みいただき、それぞれの規定に準じて下さいますようお願いいたします。

(注1) 本文中には、本邦において承認外の用法・用量が報告されている場合があります。

また、掲載薬剤の一部には、本邦未承認薬が含まれている場合があります。

(注2) 本書に転載されている図表は原著論文にあるオリジナルを損わないよう基本的にそのままの形をもとにして作成されています。

本号では、臨床的研究17報と基礎的研究13報が取り上げられました。病因・病態では、新生児期発症の原発性副甲状腺機能亢進症における *SLC12A1* 遺伝子変異、*FGF23* 血中濃度の工業化による差、血清尿酸値の大腿骨近位部の骨密度・形状・骨折リスクに与える影響、ビタミン K_1 とビタミンD血清濃度低値の併存と大腿骨近位部骨折との関連、大腿骨近位部骨折患者での Sirtuin 1 の発現低下、さらに、折茂先生らが実施されている5年に1度の調査に基づく大腿骨近位部骨折発生率の推移に関する論文も取り上げられています。治療では、テリパラチドとデノスマブの2年間併用療法による骨微細構造と強度に対する効果、オダナカチブの第II相試験の8年間の治療成績、経口ビスホスホネート治療にもかかわらず骨折リスクを有する例の割合、ビスホスホネート製剤使用と死亡率との関係、原発性副甲状腺機能亢進症に対する副甲状腺切除術とビスホスホネートの骨折リスクへの影響、が取り上げられ、リウマチの臨床では、関節リウマチの両親を持つ小児の長期有病率、FRAXの妥当性、前腕骨骨密度と関節破壊および機能障害との関係、抗シトルリン化タンパク抗体およびリウマトイド因子と死亡率増加との関係、疾患活動性と機能障害および整形外科手術リスクとの関係、生物学的製剤治療に対する反応性と冠動脈イベントリスクとの関係、が取り上げられています。

基礎的研究の骨芽細胞と骨・軟骨形成では、破骨細胞由来エクソソームの miR-214-3p による骨形成抑制、進行性骨化性線維異形成症における *ACVR1* の新機能、Notch シグナルの骨折治癒における重要性、抗スクレロシン抗体の骨芽細胞系に及ぼす影響、破骨細胞と骨吸収では、*LGR4* の破骨細胞分化および骨吸収に対する影響、エルカトニンによる非荷重に伴う骨量減少防止メカニズム、破骨細胞による骨髄腫細胞の再活性化制御、ホルモンとサイトカインでは、PTH/PTHrP 受容体の悪液質への関与、コレステロールによる *ERR α* 活性化とスタチンおよびビスホスホネートの薬理作用への関与、炎症・免疫と骨では、IL-17 産生ガンマデルタ T 細胞による骨再生促進、さらに、骨細胞による脱塩反応、骨細胞特異的な *Mbtps1* 欠損による筋再生、膜性骨化特異的な幹細胞分離とその特性、も取り上げられ、骨細胞、幹細胞という新たな分類を追加しました。

多彩で興味深い論文が紹介されており、十分楽しんで頂けると確信しています。

2016年8月

CONTENTS

各ページにリンク
しています
(表題をクリック)

I 臨床的研究

A 病因・病態

- SLC12A1 遺伝子変異による新生児期発症の原発性副甲状腺機能亢進症 — 1
- 線維芽細胞増殖因子-23(FGF-23)濃度は工業化の程度により集団ごとに異なっている — 3
- 血清尿酸値が骨密度、大腿骨近位部の骨形状および骨折リスクに与える影響：ロッテルダム研究 — 4
- ビタミンK₁およびビタミンD血清濃度低値の併存は、高齢ノルウェー人の大腿骨近位部骨折と関連する：NOREPOS研究 — 5
- 骨粗鬆症性大腿骨近位部骨折を起こした女性において、大腿骨頸部のSirtuin1発現は低下している — 6
- 日本のおも大腿骨近位部骨折の発生率～2012年の新規患者数の推定と、25年間の推移 — 8

B 治療

- テリパラチドとデノスマブの2年間併用療法による骨微細構造と骨強度の改善(DATA-HRpQCT study) — 10
- 低骨密度を呈する閉経後女性に対するオダナカチブ8年間の治療成績：第II相試験 — 11
- 経口ビスホスホネートの服薬にも関わらず骨折リスクにさらされたままである骨粗鬆症女性の割合 — 12
- 重篤疾患患者におけるビスホスホネート製剤の使用と死亡率の関係 — 14
- 原発性副甲状腺機能亢進症に対する副甲状腺切除術とビスホスホネートの骨折リスクへの影響 — 15

C リウマチの臨床

- 関節リウマチの両親を持つ小児の長期有病率：全国規模のコホート研究 — 17
- 関節リウマチ患者と一般集団における大腿骨近位部骨折および主要骨粗鬆症性骨折の10年間のリスク予測：骨密度を用いない英国FRAXの妥当性確認と更新 — 18
- 関節リウマチにおける前腕関節近傍の骨粗鬆症は関節破壊と機能障害に関係する — 19
- 抗シトルリン化タンパク抗体とリウマトイド因子は関節リウマチ患者において死亡率増加と関連しているがその死因は異なっている：3つのヨーロッパコホートにおける縦断的研究 — 20
- 関節リウマチにおける疾患活動性、機能制限の進行と整形外科手術の長期的なリスクの関係：2つの前向きコホート研究の統合解析はEULAR treat to targetのDAS閾値を支持する — 21
- 関節リウマチにおける生物学的製剤治療に対する反応性とその後の冠動脈イベントのリスク — 22

II 基礎的研究

A 骨芽細胞と骨・軟骨形成, 骨基質蛋白

- 破骨細胞由来エクソソームの miR-214-3p は骨芽細胞による骨形成を抑制する —————23
- 進行性骨化性線維異形成症における ACVR1 の新たな機能 —————25
- 骨格系前駆細胞における Notch シグナルは骨折治癒に重要である —————27
- 卵巣除去ラットに対する抗スクレロスチン抗体投与に関連した骨芽系統細胞における細胞及び転写の時系列的変化 —————29

B 破骨細胞と骨吸収

- LGR4 は RANKL の受容体で破骨細胞分化と骨吸収を負に制御する —————31
- エルカトニン是非荷重による骨髄細胞のカルシトニン受容体の発現亢進を介して前破骨細胞融合を阻害することにより, 非荷重による骨量減少を防止する —————33
- 破骨細胞は骨内膜ニッチのリモデリングにより休眠中の骨髄腫細胞の再活性化を制御する —————35

C ホルモンとサイトカイン

- PTH/PTHrP 受容体は腎不全とがんの動物モデルにおいて悪液質に関与する —————37
- コレステロールはリガンドとして ERR α を活性化し, スタチンとビスホスホネートの薬理作用に関与する —————39

D 炎症・免疫と骨

- IL-17 産生ガンマデルタ T 細胞は骨再生を促進する —————41

E 骨細胞, 幹細胞

- 骨細胞が, 骨細管に沿って脱塩反応をきたす —————43
- 骨細胞特異的な *Mbtps1* (*Pcsk8*, *Slp*, *Ski-1*) 欠損により, 成体におけるヒラメ筋の再生が促進され, 筋の大きさと収縮力は増加する —————44
- 頭蓋顔面骨の発達, 修復, 再生に関わる縫合間充織の幹細胞 —————46

SLC12A1 遺伝子変異による新生児期発症の原発性副甲状腺機能亢進症

Association of mutations in SLC12A1 encoding the NKCC2 cotransporter with neonatal primary hyperparathyroidism

Li D, Tian L, Hou C, Kim CE, Hakonarson H, and Levine MA

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 2196-2200, 2016

Copyright ©2016 by The Endocrine Society

■背景

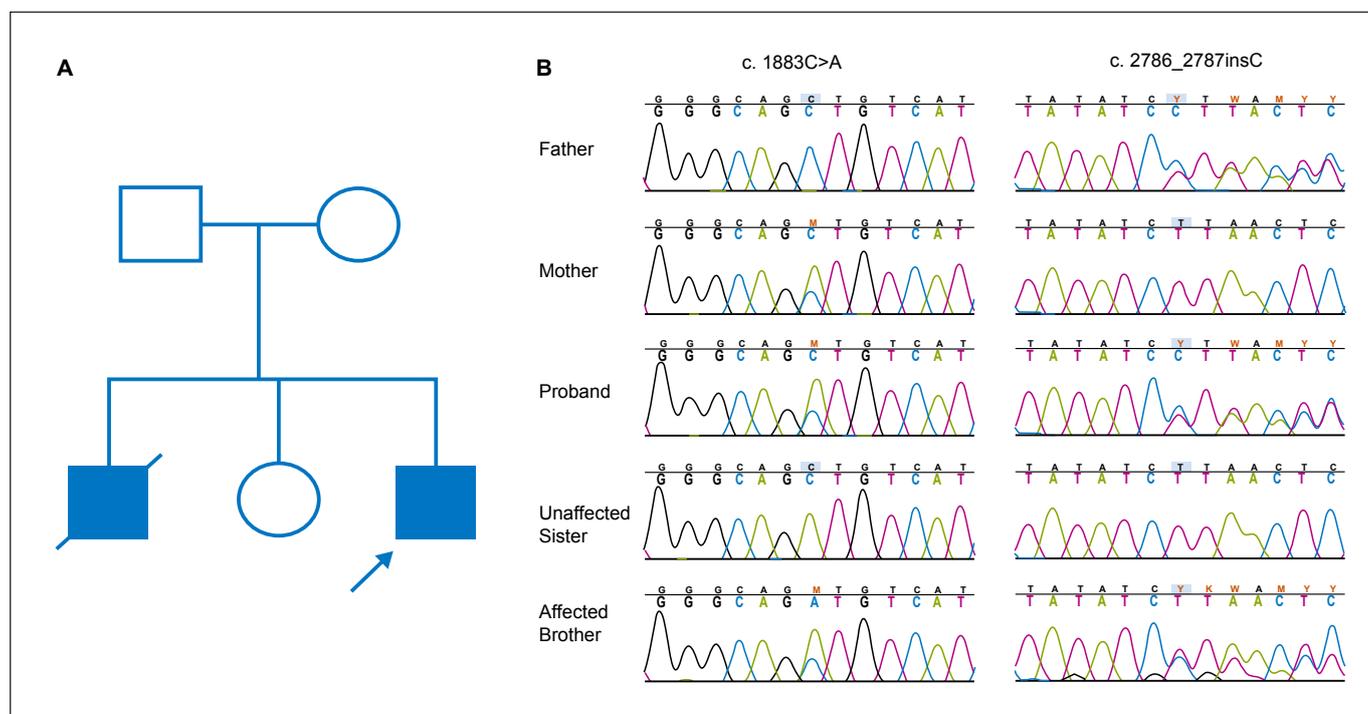
新生児期に高カルシウム (Ca) 血症をきたす疾患として、家族性低Ca尿性高Ca血症 (FHH) やその重症型である新生児重症副甲状腺機能亢進症 (NSHPT) が知られている。FHHやNSHPTの原因として、これまでにCASR 遺伝子, GNA11 遺伝子, AP2S1 遺伝子の機能喪失変異が報告されている。一方, 新生児期の高Ca尿症を伴う原発性副甲状腺機能亢進症はこれまでに報告がない。

■方法と結果

①対象と方法

原発性副甲状腺機能亢進症と高Ca尿症を呈するアフリカ系アメリカ人の12歳男児を対象とした。男児には、高Ca血症や腎石灰化を伴う多臓器不全により、生後9

週で死亡した兄がいたが、その他に原発性副甲状腺機能亢進症や腎結石の家族歴はなく、近親婚もなかった。男児は、羊水過多症のために在胎33.5週で出生し、新生児期より高Ca血症, 高PTH血症, 高Ca尿症を呈していた。腎結石や腎石灰化を合併し, シナカルセトが開始された。低カリウム血症, 代謝性アルカローシスに加えて, 血漿レニン活性, 血漿バソプレシン濃度, 尿中プロスタグランジンE2の上昇など, バーター症候群に合致する所見も認められた。男児の染色体検査は正常で, 原発性副甲状腺機能亢進症, 高Ca尿症, 2型バーター症候群に関連する既存の遺伝子には異常を認めなかった。そこで, 男児とその家族を対象にエクソーム解析およびサンガーシーケンスを行った。



【図】 A : 対象家族の家系図, 男児と兄が罹患者である。

B : SLC12A1 遺伝子のサンガーシーケンス男児, 母, 兄に c.1883C>A(A628D) 変異が認められ, 男児, 父, 兄に c.2786_2787insC(T931fsX10) 変異が認められた。罹患者である男児と兄は, SLC12A1 遺伝子変異の複合ヘテロ接合体であった。

②結果

エクソーム解析およびサンガーシーケンスにより、男児と母、兄にNa⁺/K⁺/2Cl⁻共輸送担体(NKCC2)をコードする SLC12A1 遺伝子のミスセンス変異 (c.1883C>A, A628D), 男児と父、兄に SLC12A1 遺伝子の一塩基挿入変異 (c.2786_2787insC, T931fsX10) が確認された(図)。

■結論

男児と兄は SLC12A1 遺伝子のミスセンス変異と一塩基挿入変異のヘテロ接合体であり、この変異が新生児期発症の原発性副甲状腺機能亢進症の原因と考えられた。

■コメント■

これまで1型バーター症候群の原因遺伝子とされていた SLC12A1 遺伝子変異により、新生児期発症の原発性副甲状腺機能亢進症を呈したと考えられる症例である。NKCC2は副甲状腺に発現していないため、その機能喪失が副甲状腺機能に直接影響している可能性は低い。筆者らは、プロスタグランジン E2の上昇が副甲状腺機能亢進の原因であると考察している。バーター症候群の表現型は多彩であり、その一部はカルシウム代謝異常症を合併する。本症例のように他の電解質異常を伴う先天性のカルシウム代謝異常症では、バーター症候群に関連する遺伝子変異の可能性が考えられる。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 木下 祐加

線維芽細胞増殖因子-23(FGF-23)濃度は工業化の程度により集団ごとに異なっている

Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels differ across populations by degree of industrialization

Yuen SN, Kramer H, Luke A, Bovet P, Plange-Rhule J, Forrester T, Lambert V, Wolf M, Camacho P, Harders R, Dugas L, Cooper R, and Durazo-Arvizu R

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 2246-2253, 2016

Copyright ©2016 by The Endocrine Society

■背景

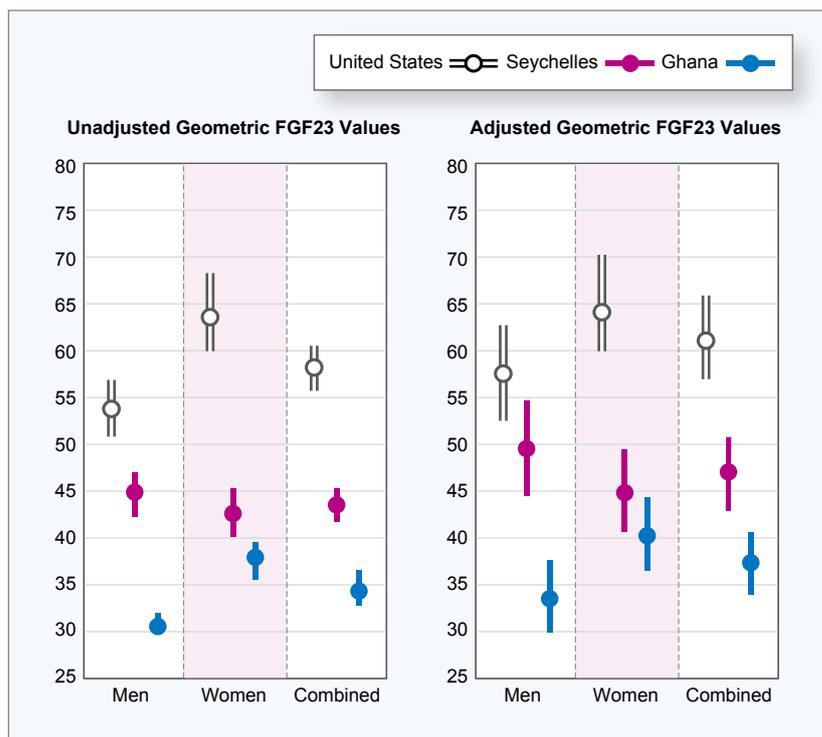
リン摂取増加に伴う線維芽細胞成長因子23 (FGF23) の代償的な上昇は健康に対して負の影響を与える可能性がある。しかしながら、リン摂取とFGF23値との関連を検討した大人数を対象とした臨床研究は、これまで主にリンの暴露が一樣である高度工業化社会に居住する人々に焦点を当ててきた。本研究の目的は、工業化の程度を異にする集団間において、食事リン摂取量、尿中リン排泄指標、FGF23濃度を比較することである。

■方法と結果

本研究は3つの集団（アメリカ合衆国イリノイ州メイウッド、セイシエルのマヘ島、ガーナのクマシ）において横断的解析により行われた。対象は25～45歳のアフリカ系祖先をもつ成人。平均年齢は35.1 (6.3) 歳で47.9%が男性であった。平均のリン摂取量と尿中リン排泄率はガーナに比較してアメリカでは有意に高値であったが、アメリカとセイシエルの間に有意な差は男女ともに認められなかった。全体として、FGF23の中央値はアメリカで57.41RU/mL (四分位範囲 [IQR] 43.42, 75.09) に対してセイシエルで42.49RU/mL (IQR 33.06, 55.39), ガーナでは33.32RU/mL (IQR 24.83, 47.36) であった。プールしたサンプルにおいて、FGF23値は食事リン摂取 ($r=0.11$; $P<0.001$) および尿中リン排泄率 ($r=0.13$; $P<0.001$) と有意に正に相関したが、血清リン値とは有意な相関は認められなかった ($r=-0.001$; $P=0.8$)。食事リン摂取は尿中リン排泄率と有意に正に相関した ($r=0.23$; $P<0.001$)。

■結論

各集団におけるFGF23値の分布は工業化の程度に影響を受ける可能性がある。この理由はリン添加物による加工食品の入手のしやすさの違いによるものと思われる。



【図】無調整および調整後(+)の場所別・性別のFGF23幾何平均値。

■コメント

食事に含まれるリンには、食材に含まれるリンのほかに、保存料、増粘剤、乳化剤、膨張剤、酸味料、かんすいなど様々な食品添加物に含まれる無機リンがある。添加物の無機リンは腸管から吸収されやすいため、特に腎不全患者では添加物の多い加工食品を避けるように指導する。今回の結果から、FGF23血中濃度は食材に含まれるリンのみならず添加物を含めたリン摂取量を反映する可能性が示された。FGF23の高値は心血管病リスクの上昇と関連すると考えられているため、食品における添加物や無機リン含有量の表示についても、今後さらに検討する余地があるだろう。

島根大学医学部臨床検査医学講座 矢野 彰三

血清尿酸値が骨密度，大腿骨近位部の骨形状および骨折リスクに与える影響：ロッテルダム研究

The influence of serum uric acid on bone mineral density, hip geometry, and fracture risk: the Rotterdam Study

Muka T, de Jonge EAL, Kiefte-de Jong JC, Uitterlinden AG, Hofman A, Dehghan A, Zillikens MC, Franco OH, and Rivadeneira F

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 1113-1122, 2016

Copyright ©2016 by The Endocrine Society

研究目的

血清尿酸値の骨格に与える影響を明らかにする。

方法

住民規模で実施されたコホート研究であるロッテルダム研究の参加者5,074名において、初回観察時に血清尿酸値と大腿骨頸部骨密度を測定した。大腿骨頸部の骨密度を以後3回の観察時毎に計測し、大腿骨近位部の骨形状を初回～第3回目の観察時に計測した。

結果

血清尿酸値は1標準偏差増加毎に大腿骨頸部骨密度 ($\beta = 0.007\text{g/cm}^2$; [95%信頼区間 0.002 ~ 0.01]) や皮質骨厚 ($\beta = 0.002\text{ cm}$; [0.0003 ~ 0.002]) と有意に正相関し、頸部骨幅 ($\beta = -0.013\text{ cm}$; [-0.23 ~ -0.003]) や座屈比 ($\beta = -0.19$; [-0.33 ~ -0.06]) と有意に負に相関した。血清尿酸値の大腿骨近位部骨密度や座屈比に対する影響は、観察期間が経過するにつれて強くなる傾向があった。全骨折、非椎体骨折および骨粗鬆症性骨折のハザード比 (95%信頼区間) は、研究開始時の血清尿酸値が1標準偏差増加するごとに、各々 0.932 (0.86 ~ 0.995), 0.924 (0.856 ~ 0.998) および 0.905 (0.849 ~ 0.982) であった。この関連は65歳を越える高齢者や、中央値を越えるビタミンC摂取者に限られていた。

結語

血清尿酸高値は、皮質骨厚の増加と大腿骨頸部径の狭小化の変化を伴う骨密度高値と関連があり、骨代謝においては保護的に作用すると思われる。しかしこの関連は、年齢とビタミンC摂取量に影響を受けている。

コメント

高尿酸血症は、痛風や心血管疾患の代替的指標として知られているが、尿酸はフリーラジカル消去能を有することから、近年では抗酸化作用や細胞保護の指標として注目されている。酸化ストレス亢進状態では、骨形成が障害され、骨量減少を招くことが示唆されていた。実際に、血清尿酸高値の骨代謝に対する影響では、例外はあるものの、骨密度高値、骨代謝回転の低下、椎体骨折の低下と有意な関連が報告されており、本報告の成績は既報を踏襲するものである。これに加えて本報告では、高尿酸血症者の大腿骨頸部骨が座屈しにくい形状を有しており、骨量のみならず「構造的骨質」が保たれていることを初めて明らかにした貴重な報告である。しかし、高尿酸血症が危険因子である疾患も存在することから、どのような集団において高尿酸血症が有益であるか、今後の研究により見極める必要があると思われる。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 山本 昌弘

【表】血清尿酸値と大腿骨頸部指標の関連

	Continuous	P Value
FN-BMD, g/cm ²		
Model 1	0.007 (0.002 to 0.011)	.002
Model 2	0.007 (0.004 to 0.013)	.001
Cortical thickness, cm		
Model 1	0.001 (0.0003 to 0.002)	.016
Model 2	0.002 (0.0003 to 0.002)	.014
Bone width, cm		
Model 1	- 0.014 (0.024 to 0.005)	.003
Model 2	- 0.013 (0.023 to 0.003)	.008
Section modulus, cm ³		
Model 1	0.002 (0.007 to 0.012)	.63
Model 2	0.004 (0.006 to 0.013)	.48
Cortical buckling ratio		
Model 1	- 0.184 (0.313; -0.055)	.005
Model 2	- 0.192 (0.327; -0.058)	.005

血清尿酸値の増加は、骨密度および皮質骨厚と有意に正相関し、大腿骨頸部骨幅および座屈比と有意に負に相関する。

表内の数値はβ値 (95%信頼区間) を示す。

Model 1: 年齢, 性別, 身長, 体重, eGFR, 計測した観察期で調整後。

Model 2: Model 1に加えて喫煙の有無, オランダ健康食指数, 身体活動指数, 既存糖尿病の有無, 既存心血管疾患の有無, 大腿骨または膝関節手術歴の有無, 利尿剤使用歴の有無, 性腺ホルモン補充療法歴の有無, コルチコステロイド治療歴の有無, 甲状腺疾患治療歴の有無, 痛風治療薬使用歴の有無, 血清リン濃度, 血清カルシウム濃度, およびビタミンC摂取量で調整後。

ビタミンK₁ およびビタミンD血清濃度低値の併存は、高齢ノルウェー人の大腿骨近位部骨折と関連する：NOREPOS研究

A combination of low serum concentrations of vitamins K₁ and D is associated with increased risk of hip fractures in elderly Norwegians: a NOREPOS study

Finnes TE, Lofthus CM, Meyer HE, Sogaard AJ, Tell GS, Apalset EM, Gjesdal C, Grimnes G, Schei B, Blomhoff R, Samuelsen SO, and Holvik K

Osteoporosis International 27 : 1645-1652, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2016

■研究目的

施設入所中の高齢者における血清ビタミンK₁濃度および血清25ヒドロキシビタミンD濃度が大腿骨近位部骨折発生率におよぼす影響を明らかにする。

■方法

1994年から2001年に住民規模の4つのコホート研究に登録された、65歳から79歳のノルウェー人21,774名の男女において、観察期間中(平均8.2年)に発生した大腿骨近位部骨折者1,090名を、同コホートより無作為に選択した非骨折者1,318名と比較した。観察研究開始時に保存した検体を用いて、骨折者および対照者の血清ビタミンK₁濃度と血清25ヒドロキシビタミンD濃度を測定した。ビタミンK₁ 0.76 nmol/L以上と未満、25ヒドロキシビタミンD 50 nmol/L以上と未満を各々高値群、低値群とし、各群を組み合わせた4群間で比較した。

■結果

年齢と性別で調整後の四分位の検討では、ビタミンK濃度と大腿骨近位部骨折の発生率に負の相関を認めた。ビタミンK₁低値かつ25ヒドロキシビタミンD低値群では、ビタミンK₁高値かつ25ヒドロキシビタミンD高値群と比較して、大腿骨近位部骨折のハザード比が50%高値であった(ハザード比1.50, 95%信頼区間1.18～1.90)。この関連は、BMIや喫煙歴、中性脂肪濃度およ

び血清αトコフェロール濃度でさらに調整を行っても維持された。いずれか一方のビタミン濃度低値のみでは骨折リスクの増加は観察されなかった。

■結語

血清ビタミンK₁濃度低値かつ25ヒドロキシビタミンD濃度低値が併存した状態は、大腿骨近位部骨折リスクの増加と関連がある。

■コメント■

骨代謝の維持に様々な栄養素を必要とするが、本研究は血清ビタミンK濃度が骨折リスクに影響することを明らかにした初めての研究である。先駆的に本邦において椎体骨折を指標に検討が行われたが、年齢の影響を受け骨折との関連がみられなかった。本研究もビタミンK単独低値では骨折と関連しなかったが、25ヒドロキシビタミンD低値の併存下では大腿骨近位部骨折と有意な関連が存在するを見いだしている。本研究の結果は、オステオカルシンを含むビタミンK依存性蛋白の転写活性が1, 25ジヒドロキシビタミンDにより促進されることにも合致する。骨粗鬆症予防において、両者の摂取を推奨する根拠となりうる論文と思われる。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 山本 昌弘

【表】血清ビタミンK濃度の中央値および25ヒドロキシビタミンD濃度 50 nmol/Lで2分割した高値群、低値群を組み合わせた4群間における大腿骨近位部骨折のハザード比と95%信頼区間

	Cases (n)	HR ^a	95% CI ^a	p ^a	HR ^b	95% CI ^b	p ^b
High K, high D	305	1	(ref)	-	1	(ref)	-
High K, low D	201	0.97	0.76-1.24	0.80	1.09	0.84-1.42	0.50
Low K, high D	304	1.17	0.94-1.46	0.16	1.12	0.88-1.43	0.35
Low K, low D	279	1.50	1.18-1.90	<0.001	1.41	1.09-1.82	0.009

ビタミンK高値かつビタミンD高値群を基準とすると、年齢性別および参加施設で調整後において、ビタミンK低値かつビタミンD低値群において大腿骨近位部骨折のハザード比の有意な増加を認めた(a)。この関連は、BMI、喫煙歴、中性脂肪濃度およびαトコフェロール濃度で調整後においても保持された(b)。

両ビタミンの高値群を対照群とした。

a 基本調整モデル：年齢、性別、調査施設で調整

b 拡張した調整モデル：基本調整モデルに加え、BMI、喫煙歴、血清中性脂肪濃度およびαトコフェロールで調整

Keywords ビタミンK, ビタミンD, 大腿骨近位部骨折

本文目次

骨粗鬆症性大腿骨近位部骨折を起こした女性において、大腿骨頸部のSirtuin1発現は低下している

Reduced Sirtuin1 expression at the femoral neck in women who sustained an osteoporotic hip fracture

El-Haj M, Gurt I, Cohen-Kfir E, Dixit V, Artsi H, Kandel L, Yakubovsky O, Safran O, and Dresner-Pollak R

Osteoporosis International 27 : 2373-2378, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2016

背景

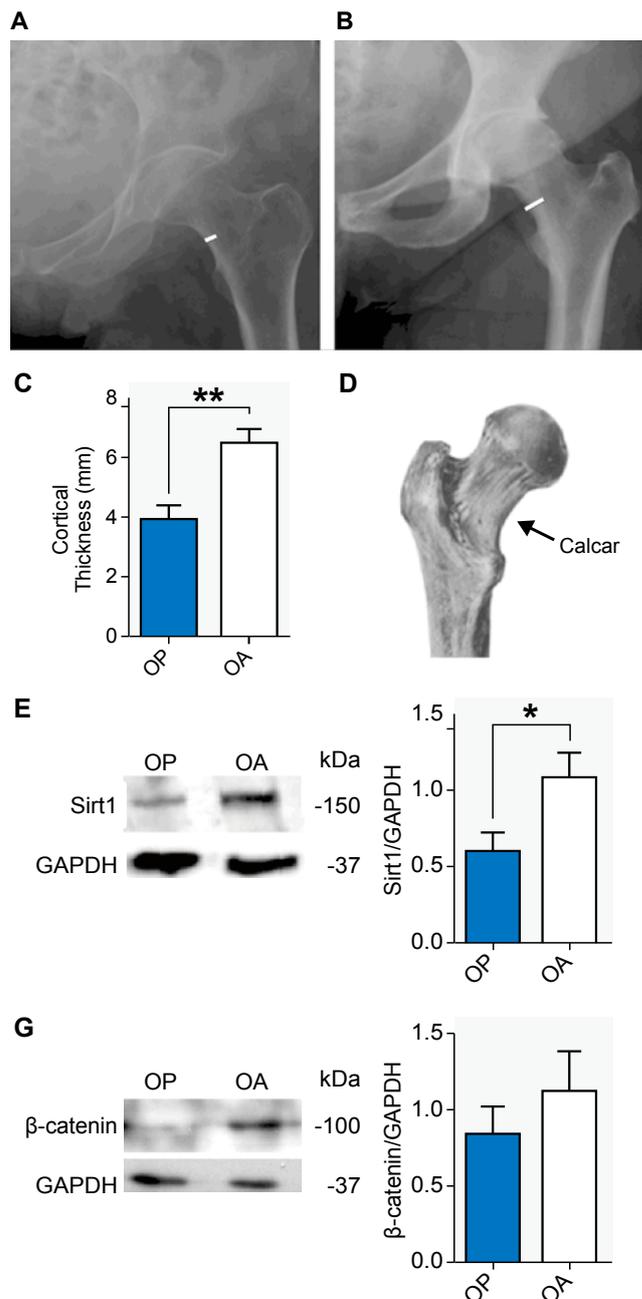
NAD⁺ 依存的脱アセチル化酵素であるSirtuinファミリーは加齢や加齢に伴う疾患群において重要な因子であることが明らかになっている。最も研究が進められているSirtuin1 (Sirt1) は骨においても重要であることが報告されており、筆者らはマウスにおいてSirt1が骨形成抑制因子であるスクレロスチンを抑制することを以前に報告している。

目的

骨粗鬆症性大腿骨近位部骨折におけるSirt1の役割とSirt1がヒト大腿骨骨髄間葉系細胞 (BM-MSCs) においてスクレロスチンを負に制御するかを検討する。

方法

大腿骨近位部骨折の部分的人工関節置換術 (n=10, 平均年齢81±8.1歳, BMI 26.2±3.6 kg/m²) あるいは骨関節炎のため人工関節置換術 (n=8, 平均年齢68±9.3歳, BMI 25.9±7.1 kg/m²) を受けた女性患者の大腿骨頸部 (距領域) の下内側皮質から採取した骨サンプルを用いて、ウェスタンブロット法によりSirt1とスクレロスチンの発現を検討した。術前に大腿距厚と大腿骨骨密度をX線とDEXAにより評価した。BM-MSCsは術中に採取し、Sirt1活性化剤であるSRT3025で処理された。スクレロスチンとdentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP1) はウェスタンブロット法により評価し、*LEF1*と*DMP1*のmRNA発現は定量的リアルタイムPCRにより測定した。



【図】 骨粗鬆症(OP)あるいは骨関節炎(OA)により手術を行った女性患者の放射線像と大腿骨頸部の蛋白発現。(A, B)白線は骨切除を行った部分、(C)大腿距皮質骨厚の比較、(D)大腿距領域のイラスト、(E)Sirt1の蛋白発現の比較(左;ウェスタンブロット、右;デンシトメトリーによる定量)、(F)スクレロスチン蛋白発現の比較(左;ウェスタンブロット、右デンシトメトリーによる定量)、(G)βカテニンの蛋白とmRNA発現の比較(左;ウェスタンブロット、右デンシトメトリーによる定量)。データは平均±標準誤差で示す。Student's testで解析した。*P<0.05, **P<0.01 対 OP患者。

■結果

骨粗鬆症患者は骨関節炎患者に比較して、皮質骨厚、大腿骨頸部骨密度と大腿骨全骨密度が低下していた。骨粗鬆症患者では Sirt1 発現は有意に低下していたが、スクレロステチンは著明に上昇していた。Sirt1 とスクレロステチン発現は負の相関を認めた ($r = -0.49$, $p = 0.047$)。骨粗鬆症患者由来 BM-MSCs への SRT3025 添加により、スクレロステチンは低下し、DMP1 蛋白は増加し、*LEF1* と *DMP1* の mRNA 発現は上昇した。

■結論

大腿骨頸部 Sirt1 発現の低下は、部分的に局所のスクレロステチン発現に影響することにより、骨粗鬆症性大腿骨近位部骨折において役割を担っている可能性がある。Sirt1 活性化の骨粗鬆症治療標的因子としての可能性について、さらなる検討が必要である。

■コメント■

近年、Sirt1 は抗加齢因子として骨代謝領域でも注目されるようになってきている。これまでに基礎的研究において Sirt1 の重要性を示唆する検討はあったが、本検討は骨粗鬆症患者の大腿骨頸部で Sirt1 発現が低下しており、Sirt1 の活性化によりスクレロステチン発現が抑制し、Wnt シグナル活性のマーカーである *LEF1* 発現が増強されることを報告している。サンプル数が少ないことや、対照群が骨関節炎患者であり平均年齢も若いことなどの研究方法の限界はあるものの、ヒトの検体を用いて Sirt1 の重要性や Sirt1 活性化がスクレロステチン発現を抑制することを初めて示した貴重な研究である。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 金沢 一平

日本の大腿骨近位部骨折の発生率～2012年の新規患者数の推定と、25年間の推移

Hip fracture incidence in Japan: Estimates of new patients in 2012 and 25-year trends

Orimo H, Yaegashi Y, Hosoi T, Fukushima Y, Onoda T, Hashimoto T, and Sakata K

Osteoporosis International 27 : 1777-1784, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2015

■背景

骨粗鬆症による大腿骨近位部骨折は機能障害の重大な原因であり、医療コストだけではなく、死亡率の上昇にも関連している。急速に高齢化が進む日本において、骨粗鬆症及び大腿骨近位部骨折の対策は急務である。

日本では1987年から5年毎に、全国の大腿骨近位部骨折の患者数を調査してきた。本研究は、2012年の大腿骨近位部骨折の新規発生患者数を推定すること、また、発生率の推移及び地域差を検討することである。

■対象と方法

全国の整形外科7,201施設のうち、4,165施設を抽出し、メールにて、2012年の大腿骨近位部骨折の新規患者数、性別、年齢を調査した。このデータを基に、計算式を用いて、全国の新規大腿骨近位部骨折患者数を推定した。また、同様にして、日本全国を12の区分に分け、5,210施設を抽出し、地域差も調査した。

■結果

2012年の大腿骨近位部骨折の新規発生患者数は、推定175,700人(95% CI 170,300～181,100)で、男性が37,600人

(36,600～38,600)、女性が138,100人(134,300～141,900)であった。2007年と比較し、1.2倍に、また、1987年と比較し、3.3倍に増加した。特に、女性の新規発生患者数は、1987年の39,700人から、2012年は138,100人と大幅に増加した。

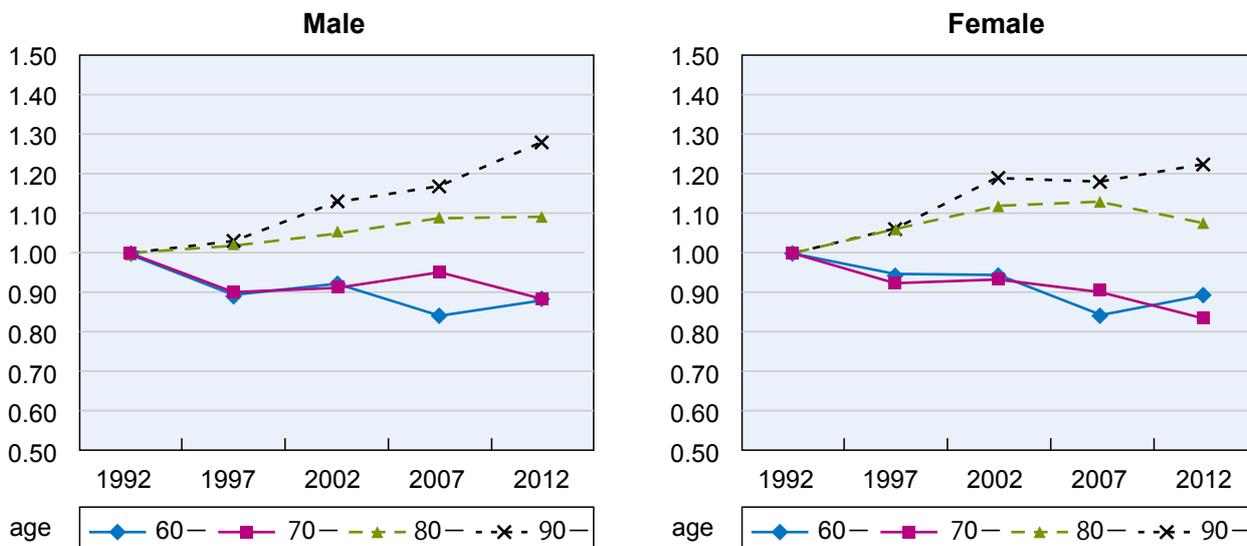
大腿骨近位部骨折の年間発生率(/10,000人)は、男女共に、70代では、1992～2012年の20年間で一番低かった。また、年間発生率は、60～79歳では男女共に減少傾向を示した(図)。

続いて、年間発生率の地域差をみたところ、男女共に西日本の方が高い傾向がみられた。

■考察

大腿骨近位部骨折の年間発生率の減少の原因としては、様々な骨粗鬆症治療薬、特に日本で1996年から使用開始となったビスホスホネート製剤の導入が一因であると考えられる。

また、地域差は、西日本の方が発生率が高いという傾向自体は変わらないが、その差は少なくなってきているように見える。これは、栄養素、特にビタミンKの摂取



【図】1992～2012年の大腿骨近位部骨折の発生率(/10,000人)の変化割合

量の地域差の減少が影響しているかもしれない。

日本では、2012年に日本骨粗鬆症学会がリエゾンサービスを設立し、骨折高リスクの患者に対して、治療介入する試みが始まった。このようなサービスや、運動指導、ロコモティブシンドロームの啓蒙などを介して、骨粗鬆症及び大腿骨近位部骨折の予防に努める必要があると考えられる。

■コメント■

大腿骨近位部骨折の患者数と発生率の推移を把握することが、今後の骨粗鬆症及び各種脆弱性骨折に対する対策を講じる上で、非常に有用であると考えられる。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科学 児玉 理恵

テリパラチドとデノスマブの2年間併用療法による骨微細構造と骨強度の改善 (DATA-HRpQCT study)

Effects of two years of teriparatide, denosumab, or both on bone microarchitecture and strength (DATA-HRpQCT study)

Tsai JN, Uihlein AV, Burnett-Bowie SM, Neer RM, Derrico NP, Lee H, Bouxsein ML, and Leder BZ

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 2023-2030, 2016

Copyright ©2016 by The Endocrine Society

背景

閉経後骨粗鬆症を対象としたDATA試験では、テリパラチドとデノスマブの2年間の併用療法は、それぞれの薬剤の単独療法と比較して、大腿骨近位部や腰椎の骨密度を有意に増加させることが示されている (JCEM. 99, 1694-700, 2014)。また、上記試験参加者の骨微細構造の変化を高分解能CT (HR-pQCT) により解析したDATA-HRpQCT試験では、テリパラチドとデノスマブの併用療法は、開始1年後の時点で、皮質骨の微細構造や骨強度を単独療法よりも有意に改善させることが示された (JBMR. 30, 39-45, 2015)。本検討では、2年間の併用療法の結果を解析した。

方法と結果

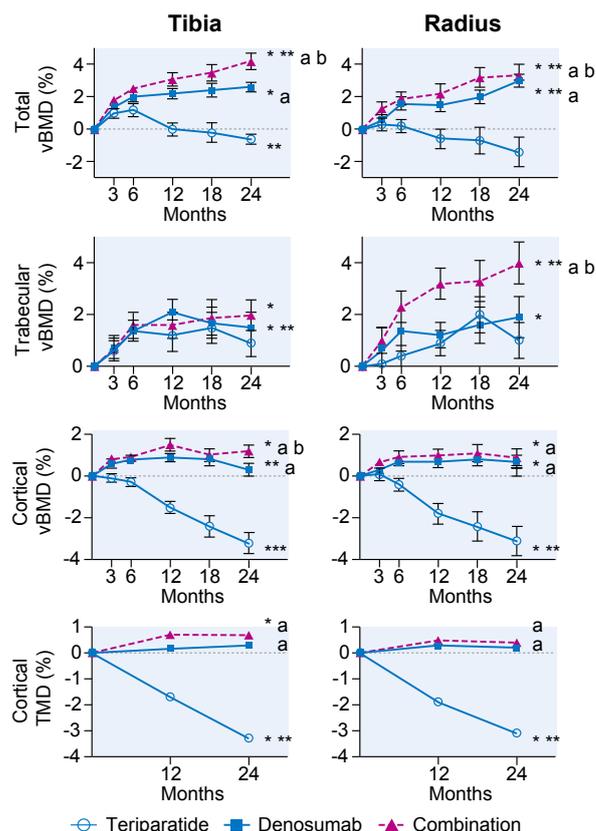
①対象と方法 骨折リスクの高い94人の閉経後女性を、テリパラチド20 µg連日皮下投与群、6ヵ月毎のデノスマブ60 mg皮下投与群、併用療法群にランダムに分割し、2年間の非盲検試験を行った。HR-pQCTを用いて、脛骨と橈骨の遠位部の骨密度、骨微細構造、骨強度の変化を解析した。②結果 脛骨と橈骨の総体積骨密度 (Total vBMD)、橈骨の海綿骨vBMD、脛骨の皮質骨vBMDは、併用療法群で単独療法群より有意に上昇した (図)。海綿骨の微細構造の変化は少なく、各群間で差異はなかった。一方脛骨の皮質骨幅は、併用療法群で単独療法群より有意に上昇した。皮質骨多孔率は、テリパラチド群においてのみ上昇し、デノスマブ群および併用療法群では変化しなかった。脛骨と橈骨における骨強度と破壊荷重は、全ての群で増加または維持されていた。

結論

2年間のテリパラチドとデノスマブの併用療法は、それぞれの単独療法と比較して、四肢骨遠位部の骨微細構造や骨強度を改善した。その効果は特に皮質骨において認められた。

コメント

本検討では、テリパラチドとデノスマブの併用療法に伴う骨微細構造の変化は、デノスマブ単独療法に伴う変化と類似していることが示されている。DATA試験で



【図】脛骨遠位部、橈骨遠位部における体積骨密度の平均変化率
開始2年後の時点で、脛骨と橈骨の総体積骨密度 (Total vBMD)、橈骨の海綿骨vBMD、脛骨の皮質骨vBMDは、併用療法群で単独療法群より有意に上昇した。*基礎値と有意差あり。**12ヵ月値と有意差あり。a:テリパラチド群と有意差あり。b:デノスマブ群と有意差あり (いずれもp値<0.05)

は、併用療法に伴う骨代謝マーカーの変化がデノスマブ単独療法に伴う変化と類似していることが示されており (JCEM. 99, 1694-700, 2014)、本検討の結果と矛盾しない。臨床的には、テリパラチド治療後からデノスマブを開始した群に比べて、併用療法からデノスマブ単独療法に移行した群のほうが、骨密度上昇率が高いことが既に報告されている (Lancet. 386, 1147-55, 2015)。以上より、骨折リスクの高い患者に対しては、テリパラチドとデノスマブの併用療法がより有効である可能性が高いと考えられる。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 木下 祐加

低骨密度を呈する閉経後女性に対するオダナカチブ8年間の治療成績：第Ⅱ相試験

Continuous treatment with odanacatib for up to 8 years in postmenopausal women with low bone mineral density: a phase 2 study

Rizzoli R, Benhamou CL, Halse J, Miller PD, Reid IR, Rodríguez Portales JA, DaSilva C, Kroon R, Verbruggen N, Leung AT, and Gurner D

Osteoporosis International 27 : 2099-2107, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2016

■背景

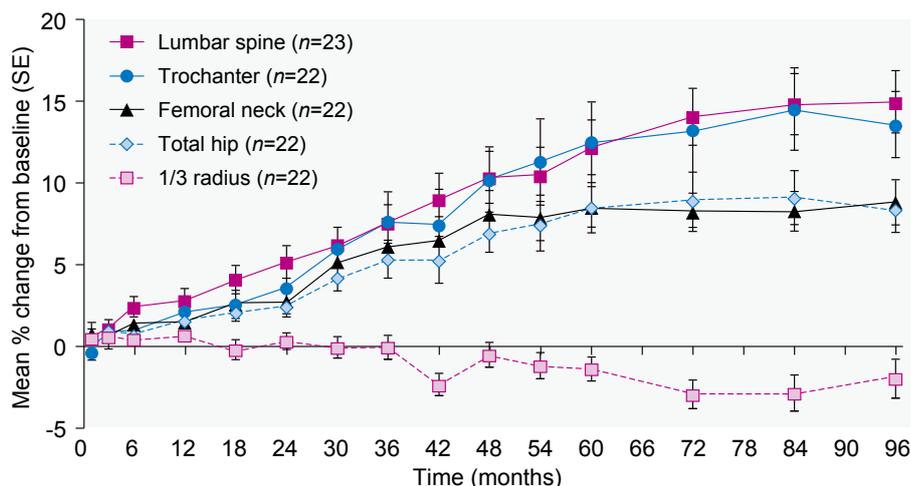
選択的カテプシンK阻害薬であるオダナカチブは、新規骨粗鬆症治療薬として期待されている。カテプシンKは破骨細胞が産生するシステインプロテアーゼであり、コラーゲンを分解する。したがってカテプシンKの阻害は、骨吸収の抑制に繋がるものと考えられる。オダナカチブの低骨密度を有する閉経後女性に対する2年間の第Ⅱ相試験、次いで行われた3年間の延長試験、合計5年間の成績では、直線的な骨密度の上昇と骨吸収マーカーの低下が得られている。

■方法

117名の低骨密度を示す閉経後女性を対象とした、オダナカチブ50mg週1回内服投与の5年間再延長試験の8年までの中間解析を行った。腰椎、大腿骨転子部、大腿骨頸部、大腿骨近位部、橈骨遠位端1/3の骨密度、各種骨代謝マーカーおよび安全性を評価した。

■結果

腰椎の骨密度は3年間で4.6%、5年間で12.9%、6年間で12.8%、8年間で14.8%の上昇が認められた(図)。大腿骨転子部、大腿骨頸部、大腿骨近位部においても骨密度の増加が認められた(図)。一方、橈骨遠位端1/3の骨密度はわずかに低下した(図)。骨代謝マーカーに関しては、尿中NTxや血清CTXはそれぞれ8年間で-46.6%、-42.5%の低下が認められた。一方同じ骨吸収マーカーでも、血清TRACP5bや血清1CTPはそれぞれ46.6%、319%の上昇を認めた。骨形成マーカーである血清BSAPや血清PINPには、有意な変化を認めなかった。8年間の追跡中に顎骨壊死、骨折後の骨癒合の遅延、斑状強皮症様の皮膚障害といった有害事象は認められなかった。



【図】8年間のオダナカチブ週1回内服を完遂した対象群の各部位の骨密度の基礎値からの変化率。エラーバーは標準誤差を示す。

■考察

オダナカチブは腰椎や大腿骨の骨密度を5～6年間持続的に増加させ、その後増加した骨量は維持された。またオダナカチブは骨形成マーカーを低下させることなく一部の骨吸収マーカーを低下させた。ビスホスホネートやデノスマブとは異なり、オダナカチブでは破骨細胞数は減少しないことが、骨形成の維持に関係している可能性がある。8年間オダナカチブを服用した患者数が少ないことが、本検討の問題点の一つである。

■コメント

ビスホスホネートやデノスマブは、強力に骨吸収を抑制する一方で、骨吸収と骨形成のカップリングにより、骨形成も低下させる。オダナカチブは、骨吸収を抑制するものの骨形成を抑制しないという点で、ビスホスホネートやデノスマブとは異なる。ただしこの骨形成の維持機構の詳細は、明らかではない。既に第Ⅲ相試験で、オダナカチブは椎体骨折や大腿骨近位部骨折などを抑制することが公表されており、本薬が骨粗鬆症の新たな治療薬となることが期待される。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 高士 祐一

※注：オダナカチブは本邦未承認

経口ビスホスホネートの服薬にも関わらず骨折リスクにさらされたままである骨粗鬆症女性の割合

Proportion of osteoporotic women remaining at risk for fracture despite adherence to oral bisphosphonates

Imel EA, Eckert G, Modi A, Li Z, Martin J, de Papp A, Allen K, Johnston CC, Hui SL, and Liu Z

Bone 83 : 267-275, 2016

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

背景

米国では毎年130万例以上の骨折が起きており、その大部分は高齢に伴う骨粗鬆症である。2010年には米国における50歳以上の5,400万人が骨密度値によって定義される骨粗鬆症もしくは低骨密度症であると推定されている。経口ビスホスホネート製剤といった高い効果を持つ治療法があるにもかかわらず、治療開始率の低さ、患者アドヒアランスの低さのためにその恩恵は不十分である。

国際骨粗鬆症財団 (IOF) は2つ以上の脆弱性骨折、著しいBMDの低下、薬剤のメカニズムと相反する骨代謝マーカーの推移を治療効果不十分の判断基準と定義した。そういった患者に関してはリスク低下のために治療法の変更を考慮する必要性が示唆される。開業医は骨折というアウトカムやBMDの低下、BMD低値継続といった代替アウトカムを治療継続か否かの指標としている。

本研究の目的は経口ビスホスホネート治療を受けているにもかかわらず、1) 1つ以上の骨折発生、2) BMD低値継続、3) BMDの著しい低下の3つの治療効果不十分なアウトカムのいずれかを起こしている女性患者の割合を大規模医療データから評価すること、および、骨折リスクとの相関がある臨床的因子、人口統計学的因子を同定することである。

方法

インディアナポリスにある5つの主要病院からなるインディアナ診療ネットワーク (INPC) 内で2年以上の経口ビスホスホネート治療を受けた50歳以上で、先の2年間に点滴ビスホスホネート治療を受けていない女性患者を対象としたレトロスペクティブコホート研究。

結果

7,435例 (フルコホート) のうち3,110例に治療開始前もしくは後のDXAデータがあり、治療前後で同じ部位でのDXAデータがあるのは601例 (完全アウトカムサブコホート) のみであった。フルコホートのうち、499例 (7%) が治療開始後7~36ヵ月の間に脆弱性骨折を起こし、2回以上起こした例は174例 (2%) であった。治療後のT

【表】骨折、Tスコア-2.5以下、治療開始前からのBMD低下、およびそれらを複合したアウトカム

	N (%)
Full cohort (n = 7435)	
Fracture (7–36 months post-index)	499 (7%)
Low T-score (minimum T-score ≤ -2.5) BMD from 13 to 36	264 (20%)
Complete-outcomes subcohort having pre and post-adherent DXA (n = 601)	
Fracture (7–36 months post-index)	38 (6%)
Low T-score (minimum T-score ≤ -2.5) from 13 to 36 months post-index	131 (22%)
BMD change^a	
Femur neck (n = 236 patients)	
Mean (SD) of overall % change	0.71 (5.85)
Increase ≥ 5%	51 (22%)
Remained unchanged (within ±5%)	148 (63%)
Decrease ≥ 5%	37 (16%)
Total hip (n = 553)	
Mean (SD) of overall % change	1.28 (5.37)
Increase ≥ 5%	112 (20%)
Remained unchanged (within ±5%)	393 (71%)
Decrease ≥ 5%	48 (9%)
Spine (n = 506)	
Mean (SD) of overall % change	3.29 (7.58)
Increase ≥ 5%	185 (37%)
Remained unchanged (within ±5%)	283 (56%)
Decrease ≥ 5%	38 (8%)
Worst BMD change at any site (n = 601)	
Increase ≥ 5%	69 (11%)
Remained unchanged (within ±5%)	434 (72%)
Decrease ≥ 5%	98 (16%)
Mean of minimum % change at any site, mean (SD)	-0.62 (5.55)
Composite outcome (one or more of the following: fracture, minimum T-score ≤ -2.5, or BMD decrease ≥ 5%)	207 (35%)

^a 四捨五入の関係で部位ごとのBMDの変化の合計は100%でないものもある。全患者で3部位すべてのデータがあるわけではないので、それぞれの部位の合計は異なる。

スコア-2.5以下はフルコホートの20%、完全アウトカムサブコホートの22%であった。完全アウトカムサブコホートのうち207例 (35%) が治療効果不十分なアウトカムを示した。207例のうち64%がTスコア-2.5以下例、47%がBMD値5%以上の低下例、18%が脆弱性骨折例であった (表)。

骨折リスクとの相関を単変量解析で解析したところ有意な相関を示したものは年齢、既往骨折、Tスコア低値、慢性疾患数といった既知のリスクファクターであった。黒色人種か否かや、薬剤の種類は骨折アウトカムに関連なかったが、カルシトニンの使用、過去のテリパラ

チド治療は骨折リスクの増加と関連があり、高リスクとみなした患者に対して行われたためと考えられた。修正Charlson併存疾患指数の上昇は骨折リスクの増加と関連があったが、グルココルチコイド使用は関連がなかった。

有意な相関を示した因子を多変量ロジスティック回帰分析（ステップワイズ法）にかけると、年齢、既往骨折が骨折の予測因子であった。以前のアレンドロネート使用は骨折リスク低下に、以前のカルシトニン使用は骨折リスク上昇に関連していた。黒色人種か否か、治療前のTスコアによる分類（-1超、-1～-2.5、-2.5未満）は関連がなかった。

2次的な解析として、完全アウトカムサブコホートにおいて、5%以上のBMD低下の予測因子を解析した。単変量解析では薬剤の種類は関連がなかった。多変量ロジスティック回帰分析（ステップワイズ法）において、年齢（ $p=0.0377$, OR 1.03 (1.00, 1.05)）、慢性呼吸器疾患（ $p=0.0270$, OR 1.74 (1.07, 2.85)）、エストロゲン使用（ $p=0.0183$, OR 2.39 (1.16, 4.93)）が関連を示したが、薬剤の種類は関連がなかった。

完全アウトカムサブコホートにおいて、7～36ヵ月における1つ以上の骨折発生はBMD低下のレベルとは関連がなかった。骨折発生は、5%以上のBMD低下例98例中8例（8%）、5%未満のBMD変動例434例中22例（5%）、5%以上のBMD上昇例69例中8例（12%）であった。BMD変動を連続変数とみても、骨折リスクとの関連はなかった。

■考察

本研究では、IOFの治療効果不十分の判断基準の定義に含まれる、骨代謝マーカーのデータがなかった。本研究の一つ目の限界はDXA検査のタイミングが症例ごとに異なることである。また、診療所レベルのDXAは精度が劣ること、骨折は臨床的に認識されたものしか捉えられていないこと、治療法変更の際の選択肢を提起するデータはないこと、2年以上の経口治療例のみが含まれているため、早期に点滴ビスホスホネート治療に変更されたような高リスク症例は除外されていることなども限界である。

■コメント■

本研究から、経口ビスホスホネート治療を受けている患者でもかなりの割合で骨折リスクが高いままであること、BMDの変動は骨折予測の代用アウトカムとはならないことが示唆された。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科学 中村 伸哉

重篤疾患患者におけるビスホスホネート製剤の使用と死亡率の関係

Preadmission bisphosphonate and mortality in critically ill patients

Lee P, Ng C, Slattery A, Nair P, Eisman JA, and Center JR

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101 : 1945-1953, 2016

Copyright © 2016 by the Endocrine Society

■背景

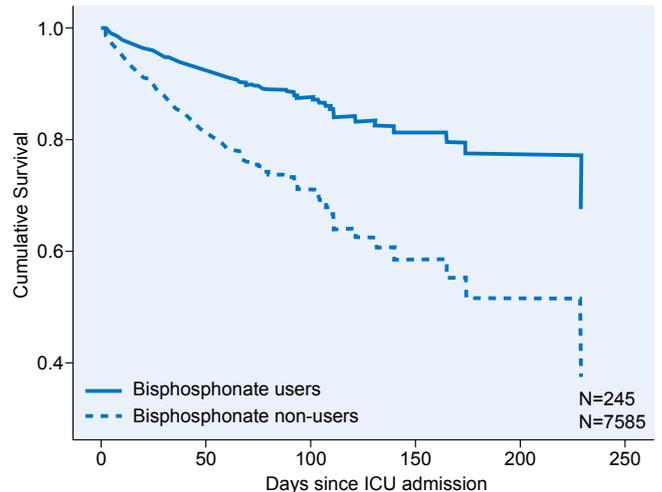
一般住民を対象とした研究では、骨吸収の増加は高死亡率と関係し、ビスホスホネート製剤の使用により骨折リスクの軽減とは独立して生存率が改善することが報告されている。さらに、肺炎や不整脈患者の死亡率もビスホスホネート製剤の使用で低下する。一方、重篤疾患に罹患すると骨吸収が亢進することが知られている。ビスホスホネート製剤は骨吸収を抑制する薬剤であるが、集中治療室 (intensive care unit: ICU) 入室を要するような重篤疾患患者においてビスホスホネート製剤使用が予後に与える影響についてはこれまで検討されていない。そこで筆者らは、ICU入室以前のビスホスホネート製剤使用の有無と重篤疾患患者の予後との関係性を調査した。

■方法

2003年から2014年までにオーストラリアのシドニーにある第三次医療機関のICUに入室した重篤疾患患者7,830名を対象に、ビスホスホネート製剤使用者と非使用者の院内死亡率を後方視的に解析した。うち111名については骨密度および血液学的な所見も調査した。

■結果

7,830名中245名が、ICU入室時にビスホスホネート製剤を使用していた。ビスホスホネート使用者は非使用者に比して有意に高齢で (66 ± 16 歳 vs 58 ± 18 歳, $p < 0.01$)、チャールソン併存疾患指数で評価すると有意に多くの合併症を有し (5.7 ± 3.6 vs 4.6 ± 3.8 , $p < 0.01$)、ICU入室時間および全入院期間も有意に長かった (175 ± 345 時間 vs 133 ± 199 時間, $p < 0.01$; 27 ± 28 日 vs 19 ± 20 日, $p < 0.01$)。一方ビスホスホネート使用者では、院内死亡率が非使用者に比して59%低下した (Mortality Rate Ratio 0.41, $p < 0.01$)。さらにこの死亡率の低下は、年齢、性別、主病名、合併症の数などで補正してもなお有意であった。ビスホスホネート製剤による死亡率低下は、ビタミンD製剤の使用とは関連しなかった。ただしビスホスホネート製剤とビタミンD製剤併用群では、死亡率の低下は62%となり (Mortality Rate Ratio 0.38, $p < 0.01$)、ビスホスホネート製剤単独に比してさらに大



【図】ビスホスホネート製剤と生存率の関係

ICUに入室する重篤疾患患者のうち、ビスホスホネート製剤使用者と非使用者の生存曲線の比較。実線がビスホスホネート製剤使用者、点線が非使用者を示す。

きかった。ICU入室により、骨密度は全体でみると平均で13%低下した ($-13 \pm 19\%$ /週, $p < 0.01$)。一方疾患の重篤度は同様であったにも関わらず、ビスホスホネート製剤使用者は非使用者に比して有意に骨密度の低下が抑制されていた ($-3 \pm 13\%$ /週 vs $-15 \pm 14\%$ /週, $p < 0.01$)。その他、血液学所見に両群間で有意差を認めなかった。

■結語

ビスホスホネート製剤の使用は、重篤疾患患者の生存率を有意に向上させることが明らかとなった。本検討は後方視的検討であり、今後さらに前方視的検討が求められる。

■コメント

本報告によると、ビスホスホネート製剤の重篤疾患患者の生存率に与える影響は非常に大きい。近年の研究で、骨はエネルギー代謝や免疫機能に関係していることが報告されている。ビスホスホネート製剤の骨密度の増加や骨折リスクの軽減以外の効果は、こうした骨-多臓器連関を介している可能性がある。ただし、本報告で認められた死亡率低下の機序については、さらに検討が必要である。

東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科 高士 祐一

原発性副甲状腺機能亢進症に対する副甲状腺切除術とビスホスホネートの骨折リスクへの影響

The relationship of parathyroidectomy and bisphosphonates with fracture risk in primary hyperparathyroidism: an observational study

Yeh MW, Zhou H, Adams AL, Ituarte PH, Li N, Liu IL, and Haigh PI

Annals of Internal Medicine 164 : 715-723, 2016

© 2016 American College of Physicians

■背景

原発性副甲状腺機能亢進症 (primary hyperparathyroidism: PHPT) に対しての手術療法と薬物治療 (ビスホスホネートなど) の骨折リスクへの影響の差はこれまでにあまり明らかにはされていない。

■方法

カリフォルニア州で民間健康保険の加入者を対象として、1995年から2010年の間に生化学的にPHPTと診断された患者の骨密度 (bone mineral density: BMD) の変化と骨折率を後ろ向きコホート研究で検討した。

■結果

2,013名のPHPT患者において大腿骨近位部BMDの変化を検討したところ、副甲状腺切除術群の女性では2年以内に4.2%増加し、ビスホスホネート治療群の女性では2年以内に3.6%増加していた。一方、経過観察群では8年後に男女ともに骨密度が低下していた (-6.6%, -7.6%)。

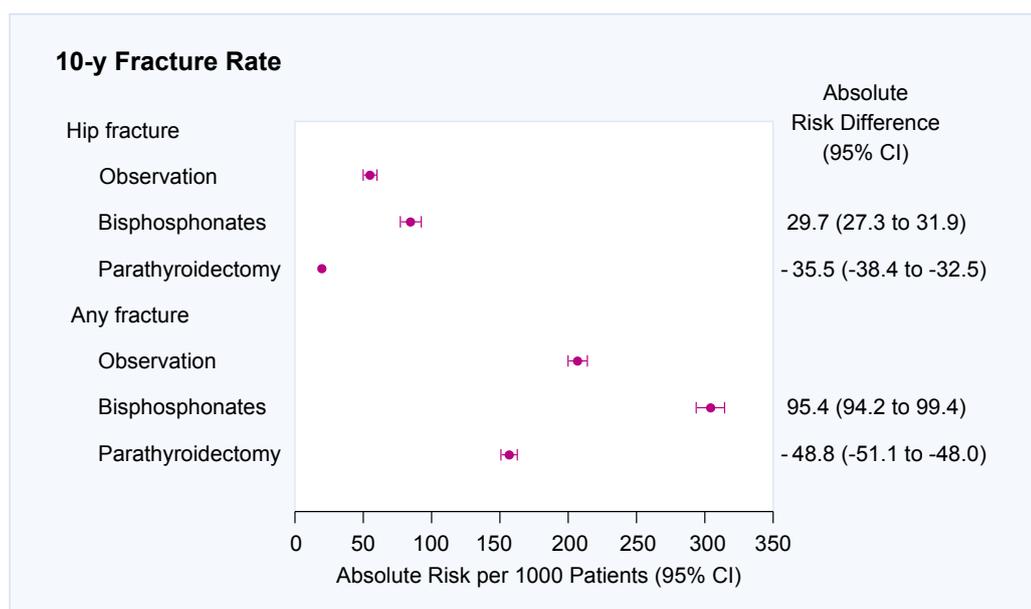
また6,272名 (副甲状腺切除群22%, ビスホスホネート治療群22%, 経過観察群55%) のPHPT患者におい

て、10年間での大腿骨近位部の骨折リスクは、副甲状腺切除術群では20.4イベント/1,000人であったのに対して、ビスホスホネート治療群では85.5イベント/1,000人であった。一方、経過観察群の大腿骨近位部の骨折リスクは55.9イベント/1,000人であった。10年間での全骨折リスクに関しては、副甲状腺切除術群では156.8イベント/1,000人、ビスホスホネート治療群では302.5イベント/1,000人であった。また経過観察群の全骨折リスクは206.1イベント/1,000人であった。

ベースラインのBMDをもとに層別化した解析では、副甲状腺切除術は骨量減少患者、骨粗鬆症患者のいずれの群でも骨折リスク減少と相関していたのに対して、ビスホスホネート治療は骨折リスク増加と相関していた。また副甲状腺切除術は、手術適応基準の項目数を用いて層別化した際にも、いずれの群でも骨折リスク低下と相関した。

■結論

後ろ向き非ランダム化研究ではあるが、PHPT患者において副甲状腺切除術は骨折リスク減少と相関した。ま



【図】 原発性副甲状腺機能亢進症における経過観察群、ビスホスホネート治療群、副甲状腺切除術群での10年間での大腿骨近位部骨折と全骨折リスクの比較
 原発性副甲状腺機能亢進症患者において、10年間で副甲状腺切除術群では大腿骨近位部骨折、全骨折のリスクがともに減少したのに対して、ビスホスホネート治療群では両リスクとも増加した。1, 2, 5年間の解析でも同様の結果が得られている。

Keywords

原発性副甲状腺機能亢進症, 副甲状腺切除術, ビスホスホネート, 骨密度, 骨折リスク

本文目次

たPHPT患者の骨折リスクにおいては、ビスホスホネートによる治療が経過観察と比べてリスク減少に有益であるとの結果は得られなかった。

■コメント■

非ランダム化観察研究において、PHPT患者で副甲状腺切除術、ビスホスホネート治療はともに大腿骨近位部BMDを上昇させた。しかし、副甲状腺切除術群では大腿骨近位部の骨折リスクが減少したのに対して、ビスホスホネート治療群では経過観察群よりも骨折リスクが増加したとの報告である。治療前の骨量に応じた層別解析でも同様の結果であったが、平均年齢が経過観察群65歳、ビスホスホネート治療群71歳、副甲状腺切除群56歳と明らかな差があり、結果に少なからず影響しているであろう。骨密度増加効果がより大きいものの、ビスホスホネート群で副甲状腺切除群よりも骨折リスクが高い理由の一つに、シックデイなどで高カルシウム血症が増悪した際の、脱水や意識障害による転倒リスクの上昇が考えられる。この点については近年PHPTに対しても保険適応となったシナカルセットをビスホスホネートと併用することで改善できるか否かが今後の検討課題であろう。いずれにしても、副甲状腺切除術が根治療法であるにもかかわらず、実際には適応があっても手術を受けていないPHPT患者が多いという状況は本邦でも同様であり、より積極的に適応症例には手術を勧めるべきであるという本論文の主旨に対する異論は少ないと思われる。

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 伊東 伸朗

関節リウマチの両親を持つ小児の長期有病率：全国規模のコホート研究

Parental rheumatoid arthritis and long-term child morbidity: a nationwide cohort study

Rom AL, Wu CS, Olsen J, Jawaheer D, Hetland ML, Ottesen B, and Mørch LS

Annals of the Rheumatic Diseases published Online First: [December 23, 2015]
10.1136/annrheumdis-2015-208072

© Article author (or their employer) 2015. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

■背景と目的

関節リウマチ (RA) や若年性特発性関節炎 (JIA) は、親が自己免疫疾患を持つ子供により多くみられることが知られている。そこで、親がRAの場合に子供の罹患率に対する影響を調査することとした。

■方法

1977年～2008年にデンマークで出産した1,917,723例の単生児を対象として平均16年追跡調査した。国際疾病分類 (ICD) の第8および10版を用いることにより、11の主な診断群と特殊な自己免疫疾患に関する子供の罹患率を調整ハザード比で評価した。

■結果

両親がRAでない子供と比較して、母親がRA (臨床的および前臨床的) (n=13,566) の小児は11の主な診断群のうち8つで最大26%高い罹患率を示した。同様の傾向は父親がRA (臨床的および前臨床的) (n=6,330) の子供でもみられ、6つの主な診断群で有意に高い罹患率を示した (図)。特に自己免疫疾患は罹患率が高く、JIAは3倍の罹患率 (母親がRA：ハザード比3.30, 95%信頼区間

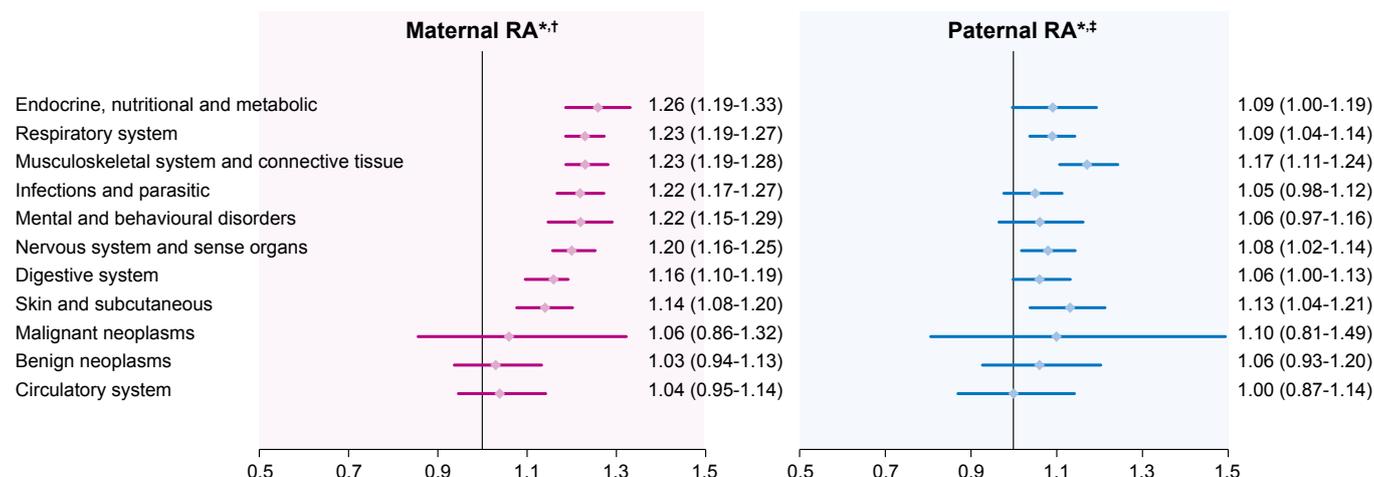
2.71～4.03, 父親がRA：ハザード比2.97, 95%信頼区間2.20～4.01), I型糖尿病は40%の罹患率増加 (母親がRA：ハザード比1.37, 95%信頼区間1.12～1.66, 父親がRA：ハザード比1.44, 95%信頼区間1.09～1.90), 喘息が30%の罹患率増加 (母親がRA：ハザード比1.28, 95%信頼区間1.20～1.36, 父親がRA：ハザード比1.15, 95%信頼区間1.04～1.26)であった。

■結論

親がRAの子供は一貫して高い罹患率を示した。この関連が生物学的機序を反映するならば、遺伝的要因が重要な役割を演じるものと考えられる。このことから、RAの親を持つ子供に注意を払う必要性が喚起される。

■コメント

国を挙げての大規模なRA患者の子供についてのコホート研究である。16歳までの小児期の検討であるが、今後さらに長期間 (成人期, 壮年期) の検討も待たれる。
近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 上野 貢生



【図】 図：親が関節リウマチ (RA) の場合の小児における全罹患率のハザード比。

RA, 関節リウマチ。*ハザード比と95%信頼区間。比較群は両親がRAでない小児。†母親の年齢, 教育レベル, 出生年と父方のRAで調整。‡母親の年齢, 教育レベル, 出生年と母方のRAで調整

関節リウマチ患者と一般集団における大腿骨近位部骨折および主要骨粗鬆症性骨折の10年間のリスク予測：骨密度を用いない英国FRAXの妥当性確認と更新

Predicting the 10-year risk of hip and major osteoporotic fracture in rheumatoid arthritis and in the general population: an independent validation and update of UK FRAX without bone mineral density

Klop C, de Vries F, Bijlsma JWJ, Leufkens HGM, and Welsing PMJ.

Annals of the Rheumatic Diseases published Online First: [March 16, 2016]

10.1136/annrheumdis-2015-208958

© Article author (or their employer) 2016. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

目的

FRAXは、骨折リスクを予測する因子として関節リウマチ(RA)を組み入れている。本研究の目的はRA患者に対する英国FRAXを検証し、必要なら更新し、一般集団(GP)と予測性能を比較することである。

方法

英国 Clinical Practice Research Datalink (CPRD) (RA:n=11,582, GP:n=38,755) を用いたコホート研究で、大腿骨近位部骨折による入院データ (CPRD-Hospital Episode Statistics, HES) (RA:n=7,221, GP:n=24,227) ともリンクしていた。骨密度を用いない英国FRAXの予測性能を評価し、更新による予測性能の違いは、英全国骨粗鬆症ガイドライングループの介入閾値を用いてC-統計量と純再分類改善度(NRI)により検討した。

結果

英国FRAXはRA患者の骨折のリスクを、主要骨粗鬆症性骨折(予測値vs観察値:13.3%vs8.4%)、大腿骨近位部骨折(CPRD:5.5%vs3.1%, CPRD-HES:5.5%vs4.1%)ともに有意に過大評価した(図1, 2)。RA罹病期間やグルココルチコイド使用(7.5mg/日を超す)、続発性骨粗鬆症を加味した検討では、NRI(0.01, 95%信頼区間-0.04~0.05)あるいはC-統計量(0.78)を改善しなかった。

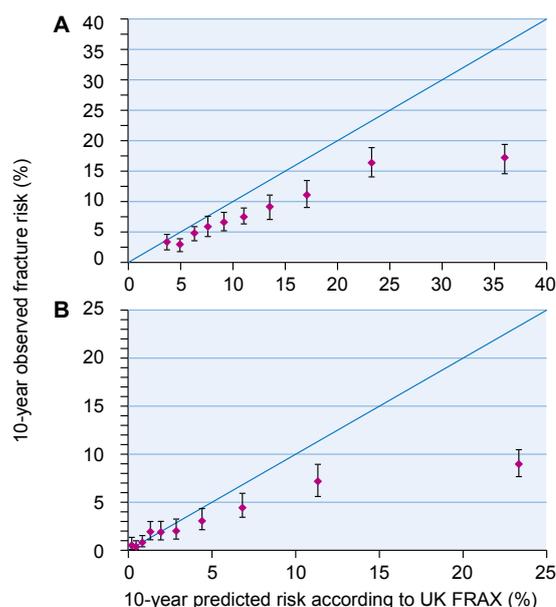
結論

英国FRAXはRA患者の骨折リスクを過大評価したが、入院にリンクさせたGPにおける大腿骨近位部骨折については良好な識別性能を示した。再校正した英国FRAXの検討では予測精度を改善しなかった。

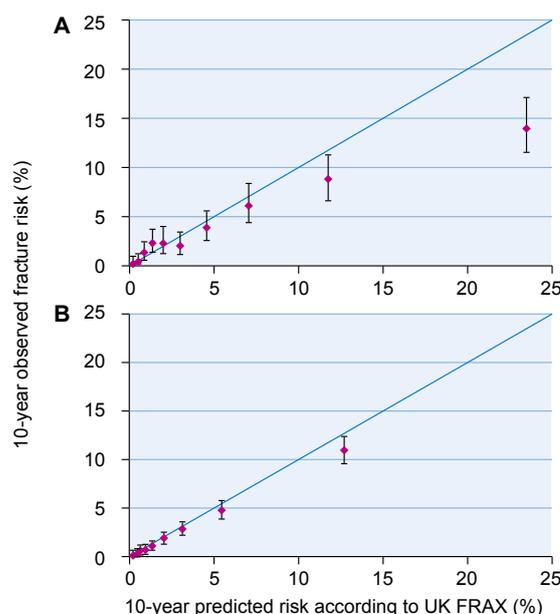
コメント

関節リウマチの治療は近年著しく進歩し、疾患活動性のコントロールが良好となってきた。FRAXの基本的なデータを更新する必要があるかもしれない。

近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 神谷 正人



【図1】英国FRAX(Clinical Practice Research Datalink)を用いた関節リウマチ患者における(A)主要骨粗鬆症性骨折と(B)大腿骨近位部骨折の予測を、予測リスクのパーセントで示した予測検量線プロット



【図2】英国FRAX(Clinical Practice Research Datalink - Hospital Episode Statistics)を用いた(A)関節リウマチ患者と(B)一般集団における大腿骨近位部骨折の予測を、予測リスクのパーセントで示した予測検量線プロット

関節リウマチにおける前腕関節近傍の骨粗鬆症は関節破壊と機能障害に関係する

Periarticular osteoporosis of the forearm correlated with joint destruction and functional impairment in patients with rheumatoid arthritis

Iwata T, Ito H, Furu M, Hashimoto M, Fujii T, Ishikawa M, Yamakawa N, Terao C, Azukizawa M, Hamamoto Y, Mimori T, Akiyama H, and Matsuda S

Osteoporosis International 27 : 691-701, 2016

© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2015

■背景

関節リウマチ患者の日常生活における障害は全身の関節破壊に由来する。しかし関節近傍の骨粗鬆症と関節破壊や機能障害の関係は十分に解明されていない。本研究では前腕関節近傍の骨粗鬆症は手関節の骨破壊や上肢機能に相関するという仮説のもと、①前腕遠位端と遠位1/3における骨密度(Bone mineral density:BMD)の違い、②前腕遠位のBMDと手の関節破壊、上肢機能などとの相関、③前腕遠位BMDの独立した予測因子、④早期RAにおける前腕遠位端と遠位1/3のBMDの違いについて検討した。

■方法

2012年4月から12月にThe Kyoto University Rheumatoid Arthritis Management Alliance (KURAMA) cohortに登録された症例についてcross-sectional studyを行った。評価項目は前腕遠位骨密度、modified total Sharp score (mTSS)による手の関節破壊の程度、health assessment questionnaire (HAQ)による機能障害の程度と他の臨床データで、左前腕遠位の骨密度に影響を与える項目を解析した。

■結果

2012年にKURAMA cohortに登録されたのは673例で平均年齢62.9歳、平均罹病期間14.9年であった。継続的に本研究に参加した405例のうち35例を除外した370例(平均年齢62.9歳)が欠損データのないRA症例として

登録された。MTX、生物学的製剤、ステロイドの使用率はそれぞれ70.8%、29.5%、40.5%であった。前腕遠位端骨密度(BMDud)は前腕遠位1/3骨密度(BMD1/3)にくらべて有意に低値であった。Stepwise regression analysisを行った結果、mTSSはBMD1/3低値の独立した予測因子であった。一方、年齢および上肢に関するHAQ scoreはBMDud、BMD1/3両者に対する独立した予測因子であった。RA罹病期間が短い症例においてさえもBMDudはBMD1/3よりも有意に減少していた。罹病期間の短い患者ではremission群と比較してnon-remission群でBMD1/3が有意に低値であった。

■結論

前腕遠位の関節近傍BMDはRA患者の関節破壊や機能障害と密接に相関している。臨床症状が明らかなRA、特に活動性の高い患者では前腕遠位の関節近傍BMDがすでに減少している可能性がある。

■コメント

RAにおける前腕の骨密度低下と骨破壊、機能障害との間に有意な相関がみられており、RAそのものの治療だけでなく、骨代謝の見地からも治療戦略を考慮することが今後の重要な課題となる。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科 大宮 俊宣

[表]

	BMDud <2 years (n=48)		BMDud 2~10 years (n=100)		BMDud <10 years (n=222)	
	Spearman's correlation	p Value	Spearman's correlation	p Value	Spearman's correlation	p Value
HAQ (upper extremity)	-0.1072	0.5102	-0.2959	0.0085	-0.2040	0.0060
DASH (physical function and symptoms)	-0.1182	0.4678	-0.3466	0.0019	-0.1767	0.0180
	BMD 1/3<2 years (n=48)		BMD 1/3 2~10 years (n=100)		BMD 1/3>10 years (n=222)	
	Spearman's correlation	p Value	Spearman's correlation	p Value	Spearman's correlation	p Value
HAQ (upper extremity)	-0.1925	0.2341	-0.3195	0.0044	-0.3257	<0.0001
DASH (physical function and symptoms)	-0.1676	0.3013	-0.3768	0.0007	-0.3039	<0.0001

HAQ(upper extremity)とDASH scoreは罹病期間2~10年と10年以上ではBMDudとBMD1/3の両者と有意に相関しているが、2年未満では有意な相関はみられなかった。

Keywords 骨粗鬆症, 関節リウマチ, 骨破壊, 身体機能

本文目次

抗シトルリン化タンパク抗体とリウマトイド因子は関節リウマチ患者において死亡率増加と関連しているがその死因は異なっている：3つのヨーロッパコホートにおける縦断的研究

Anticitrullinated protein antibodies and rheumatoid factor are associated with increased mortality but with different causes of death in patients with rheumatoid arthritis: a longitudinal study in three European cohorts

Ajeganova S, Humphreys JH, Verheul MK, van Steenberg HW, van Nies JAB, Hafström I, Svensson B, Huizinga TWJ, Trouw LA, Verstappen SM, and van der Helm-van Mil AHM

Annals of the Rheumatic Diseases published Online First: [January 12, 2016]

10.1136/annrheumdis-2015-208579

© Article author (or their employer) 2016. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

■背景

自己抗体を有する関節リウマチ (RA) 患者の死亡率は増加するが、どの自己抗体が死亡率と結びつくか、また死因との関係も未知である。

■方法

Better Anti-Rheumatic Farmaco-therapy コホート (BARFOT), Norfolk Arthritis Register (NOAR), Leiden Early Arthritis Clinic コホート (EAC) の早期 RA 患者 2,331 例を対象とし、抗シトルリン化タンパク抗体 (ACPA), リウマトイド因子 (RF), 抗カルバミル化タンパク抗体 (抗 CarP) の存在と全原因死亡および死因特異的死亡との関連について検討した。

■結果

26,300 人年の観察から、全原因死亡率 (95%CI) のハザード

ド比は ACPA で 1.48 (1.22 ~ 1.79), RF で 1.47 (1.22 ~ 1.78), 抗 CarP で 1.33 (1.11 ~ 1.60) であり、RF が他の自己抗体 (HR 1.30 (1.04 ~ 1.63)) と独立して全原因死亡率増加と関係していた (図)。

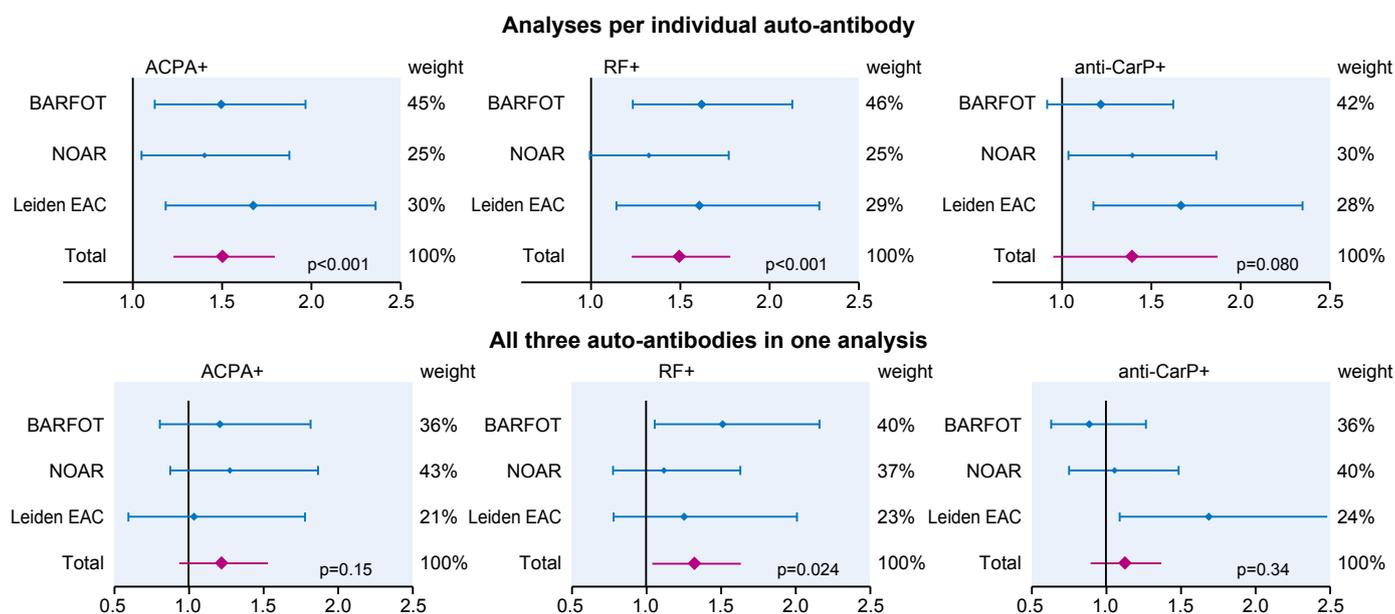
■結論

RA 患者における RF の存在は全体的な死亡率増加と関連していた。原因別死亡率は自己抗体の間で異なり、ACPA は心血管死と、RF は新生物、呼吸器疾患関連死と関係していた。

■コメント

本報告は各種自己抗体と死亡原因との関連に関する新たな知見を提供した。

東成病院整形外科 野中 藤吾



【図】 RA の患者の全原因死亡リスクに対する抗シトルリン化タンパク抗体 (ACPA), リウマトイド因子 (RF) と抗カルバミル化タンパク抗体 (抗 CarP) の影響のメタ解析について、個々の自己抗体ごとおよび一つのモデルでの全抗体に関する検討結果を示す。Better Anti-Rheumatic Farmaco-therapy コホート (BARFOT), Norfolk Arthritis Register (NOAR), Early Arthritis Clinic コホート (EAC) のコホートごとにコックス回帰モデル (年齢, 性, 喫煙, 登録年について調整) によるハザード比 (95% 信頼区間) を示し、ハザード比は固定 p 値 (示される場合ランダムな効果 p 値) によるメタ解析結果。個々の抗体についての解析: ACPA, $I^2=0.0\%$ $p=0.59$, fixed effects $p\leq 0.001$, random effects $p\leq 0.001$; RF, $I^2=26.1\%$ $p=0.26$, fixed effects $p\leq 0.001$, random effects $p\leq 0.001$; anti-CarP, $I^2=68.9\%$ $p=0.041$, fixed effects $p=0.002$, random effects $p=0.080$; 一つのモデルでの全抗体に関する検討結果; ACPA, $I^2=0.0\%$ $p=0.83$, fixed effects $p=0.15$, random effects $p=0.15$; RF, $I^2=0.0\%$ $p=0.52$, fixed effects $p=0.024$, random effects $p=0.024$; anti-CarP, $I^2=61.5\%$ $p=0.075$, fixed effects $p=0.34$, random effects $p=0.46$

関節リウマチにおける疾患活動性、機能制限の進行と整形外科手術の長期的なリスクの関係： 2つの前向きコホート研究の統合解析はEULAR treat to targetのDAS閾値を支持する

Association between rheumatoid arthritis disease activity, progression of functional limitation and long-term risk of orthopaedic surgery: combined analysis of two prospective cohorts supports EULAR treat to target DAS thresholds

Nikiphorou E, Norton S, Young A, Carpenter L, Dixey J, Walsh DA, and Kiely P; ERAS and ERAN

Annals of the Rheumatic Diseases published Online First: [March 15, 2016]

10.1136/annrheumdis-2015-208669

© Article author (or their employer) 2016. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

■ 目的

早期の関節リウマチ (RA) における疾患活動性と機能障害および長期の整形外科的なエピソードとの関連性を調査する。

■ 方法

Health Assessment Questionnaire (HAQ) 障害スコアは1986年から2012年までの2つの早期RAに対する通常ケアの開始縦断コホートであるEarly Rheumatoid Arthritis StudyとEarly Rheumatoid Arthritis Networkから抽出した。25年を超す大および中間の整形外科手術のエピソードは国のデータセットから収集した。疾患活動性は1～5年目の年1回の平均疾患活動性 (DAS28) スコアにより分類した；寛解 (RDAS \leq 2.6), 低疾患活動性 (LDAS > 2.6 ~ 3.2), 低-中等度活動性 (LMDAS \geq 3.2 ~ 4.19), 高-中等度活動性 (HMDAS 4.2 ~ 5.1), 高疾患活動性 (HDA > 5.1)。

■ 結果

2,045例のデータを分析し、RDAS例は5年以上HAQの増悪はなかった (図) が、DAS28のカテゴリの上昇と1年目のHAQおよび1年目から5年目にかけてのHAQの進行率に有意な関連が認められた。27,986人年のフォローアップ中に392の中間と591の大手術が確認された。RDASカテゴリと比較して、中間手術についてはHDAS, HMDASで、大手術についてはHDAS, HMDAS, LMDASで累積頻度の有意な増加が認められた (表)。RDAS とLDAS間ではHAQの進行または整形外科的エピソードに有意な差はなかった。

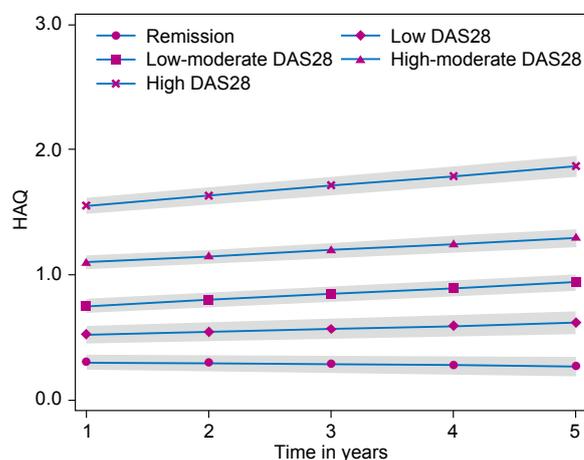
■ 結論

疾患活動性と機能障害や長期の整形外科エピソードとの関連が認められた。本研究から中等度活動性が持続することは良好な結果とかけ離れていることが示され、すべての患者に低疾患活動性または寛解を達成することを推奨する欧州リウマチ学会のtreat to targetの考え方を支持する。

■ コメント

英国のレジストリでは生物学的製剤の登場後も膝や股関節の人工関節を中心とした大手術は減少していないことをこれまでも提示していたが、今回の結果より、発症後可能な限り早期の疾患活動性をコントロールすべきとするT2Tの概念の重要性が裏付けられた。

大阪リハビリテーション病院整形外科 西坂 文章



【図】 疾患活動性スコア(DAS28)カテゴリごとの機能障害(HAQ)の進行。色の濃い部分は95% CIを示す。

【表】 DAS28 カテゴリによる中間および大の整形外科手術のハザード比(95%CI)

	DAS28 category				
	Remission†	Low	Low-moderate	High-moderate	High
Intermediate surgery	1.00	1.13 (0.60 to 2.11)	1.33 (0.77 to 2.29)	1.80* (1.05 to 3.11)	2.59* (1.49 to 4.52)
Major surgery	1.00	1.65 (0.97 to 2.80)	2.07** (1.28 to 3.33)	2.16** (1.32 to 3.52)	2.48** (1.50 to 4.11)

*P<0.001, **P<0.05. †参照カテゴリと他のDAS28カテゴリを比較。DAS, 疾患活動性スコア

関節リウマチにおける生物学的製剤治療に対する反応性とその後の冠動脈イベントのリスク

Response to biological treatment and subsequent risk of coronary events in rheumatoid arthritis

Ljung L, Rantapää-Dahlqvist S, Jacobsson LTH, and Askling J; ARTIS Study Group

Annals of the Rheumatic Diseases published Online First: [March 16, 2016]

10.1136/annrheumdis-2015-208995

© Article author (or their employer) 2016. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& EULAR) under licence.

■目的

関節リウマチ (RA) において心血管疾患のような併存疾患のリスク増加が、特定の抗リウマチ治療またはそれに対する応答によって元に戻せるかどうかは不明だが、臨床上非常に重要な点である。そこで、腫瘍壊死因子阻害剤 (TNFi) に対する応答が急性冠動脈症候群 (ACS) のリスク低下に関連があるかどうかを検討することとした。

■方法

最初の TNFi を 2001 年～2012 年に開始した RA 患者のコホートとしてスウェーデンの生物学的製剤のレジスターを用いた。治療開始 3～8 ヶ月後の欧州リウマチ学会 (EULAR) 応答 (それぞれ、初回時、最良時と 5 ヶ月に最も近い時期の測定値を用いて評価) と、その後の年間の ACS 発症リスクの関係を Cox 回帰モデルで分析した。調整は、心血管リスク因子、関節手術、RA 罹病期間、教育や就労困難、について行った。

■結果

TNFi を開始した患者 (n=6,864, 平均年齢 55 歳, 77% が女性) 6,592 人年のうち、47 件の ACS が発生した。EULAR 応答が良好な患者では、粗発生率は 1,000 人年

あたり 1 年の経過観察で 2.8 から 3.5, 2 年の経過観察では 4.3 から 4.4 であり、また応答が中等度または無かった患者の粗発生率は、1 年の経過観察で 8.6 から 10, 2 年の経過観察では 7.7 から 9.2 であった (表)。EULAR 応答がなかった患者に比し応答が良好な患者では、1 年間の ACS リスクの調整後ハザード比 (95% 信頼区間) は、初回時、最良時、5 ヶ月に最も近い時期それぞれで 0.5 (0.2～1.4), 0.4 (0.2～0.9), 0.5 (0.2～1.2) であった。EULAR 応答が中等度であった患者は応答を認めなかった患者と同様に、一般人 (n=34,229) と比し ACS リスクは 2 倍以上であった。応答が良好な患者では、一般人と比べ統計学的に有意なリスクの差は認められなかった。

■結論

最適な RA の疾患コントロールは、RA 患者の ACS リスク増加を元に戻す可能性を有する。

■コメント

白人のリウマチ患者の死因の第 1 位は心血管イベントであり、TNF 阻害薬の有用性が示されたと言える。

近畿大学医学部奈良病院整形外科・リウマチ科 神谷 正人

【表】最初の TNF 阻害薬開始後 2～8 ヶ月時点での RA 患者における EULAR 応答に関連した ACS の粗発生率と発症リスクのハザード比

	One year of follow-up after response evaluation					Two years of follow-up after response evaluation				
	N ACS	Person-years	Crude IR (95% CI)	HR, adjusted for age and sex (95% CI)	HR, fully adjusted (95% CI)*	N ACS	Person-years	Crude IR (95% CI)	HR, adjusted for age and sex (95% CI)	HR, fully adjusted (95% CI)*
<i>EULAR response using the first DAS28 in the evaluation window</i>										
All patients	44	6606	6.7 (5.0 to 9.0)			84	12 612	6.7 (5.4 to 8.2)		
Good response	8	2496	3.2 (1.6 to 6.4)	0.5 (0.2 to 1.1)	0.5 (0.2 to 1.4)	21	4761	4.4 (2.9 to 6.8)	0.6 (0.4 to 1.1)	0.7 (0.4 to 1.3)
Moderate response	21	2367	8.9 (5.8 to 14)	1.1 (0.5 to 2.1)	1.3 (0.6 to 2.7)	35	4554	7.7 (5.5 to 11)	0.9 (0.6 to 1.5)	1.1 (0.6 to 1.8)
No response	15	1743	8.6 (5.2 to 14)	Referent	Referent	28	3297	8.5 (5.9 to 12)	Referent	Referent
<i>EULAR response using the best DAS28 in the evaluation window</i>										
All patients	46	6590	7.0 (5.2 to 9.3)			85	12 566	6.8 (5.5 to 8.4)		
Good response	8	2885	2.8 (1.4 to 5.5)	0.3 (0.1 to 0.8)	0.4 (0.2 to 0.9)	24	5509	4.4 (2.9 to 6.5)	0.6 (0.3 to 1.0)	0.6 (0.4 to 1.2)
Moderate response	23	2205	10 (6.9 to 16)	1.0 (0.5 to 1.9)	1.2 (0.6 to 2.4)	35	4230	8.3 (5.9 to 12)	0.9 (0.5 to 1.4)	1.0 (0.6 to 1.8)
No response	15	1500	10 (6.0 to 17)	Referent	Referent	26	2828	9.2 (6.3 to 14)	Referent	Referent
<i>EULAR response using DAS28 closest to 5 months</i>										
All patients	47	6592	7.1 (5.4 to 9.5)			84	12 571	6.7 (5.4 to 8.3)		
Good response	9	2573	3.5 (1.8 to 6.7)	0.4 (0.2 to 1.0)	0.5 (0.2 to 1.2)	21	4905	4.3 (2.8 to 6.6)	0.6 (0.4 to 1.1)	0.7 (0.4 to 1.2)
Moderate response	22	2279	9.7 (6.4 to 15)	1.0 (0.5 to 1.9)	1.1 (0.6 to 2.1)	36	4375	8.2 (5.9 to 11)	1.0 (0.6 to 1.6)	1.0 (0.6 to 1.6)
No response	16	1740	9.2 (5.6 - 15)	Referent	Referent	27	3290	8.2 (5.6 - 12)	Referent	Referent

*性、年齢、居住郡、TNF 阻害薬開始年、一般的な高血圧、糖尿病、脳血管疾患、その他の動脈硬化症、10 年を超す RA 罹病期間、関節手術と社会経済的要因 (就労困難と教育レベル) で調整。ACS, 急性冠動脈症候群; DAS28, 28 関節の疾患活動性スコア; EULAR, 欧州リウマチ学会; IR, 発生率; RA, 関節リウマチ; TNF, 腫瘍壊死因子

Keywords 関節リウマチ, 腫瘍壊死因子阻害薬, 急性冠動脈症候群

本文目次

破骨細胞由来エクソソームのmiR-214-3pは骨芽細胞による骨形成を抑制する

Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation

Li D, Liu J, Guo B, Liang C, Dang L, Lu C, He X, Cheung HY, Xu L, Lu C, He B, Liu B, Shaikh AB, Li F, Wang L, Yang Z, Au DW, Peng S, Zhang Z, Zhang BT, Pan X, Qian A, Shang P, Xiao L, Jiang B, Wong CK, Xu J, Bian Z, Liang Z, Guo DA, Zhu H, Tan W, Lu A, and Zhang G

Nature Communications 7 : 10872, 2016

© 2016 Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

■背景・目的

破骨細胞による骨吸収から骨芽細胞による骨形成へ転換するための機構について盛んに研究されている。22塩基程度のノンコーディングRNAからなるMicroRNAs(miRNAs)は、破骨細胞や骨芽細胞の機能を制御する重要な因子の一つであるが、破骨細胞による骨吸収から骨芽細胞による骨形成への転換の調節機構にmiRNAが関与するかはほとんど不明である。本研究では、老人性骨折の女性や卵巣摘出マウス(OVXマウス)において、破骨細胞が豊富にmiR-214-3pを産生し骨形成を減少させることを見出し、miR-214-3pを標的とした骨減少性骨疾患治療の可能性について検討した。

■方法・結果

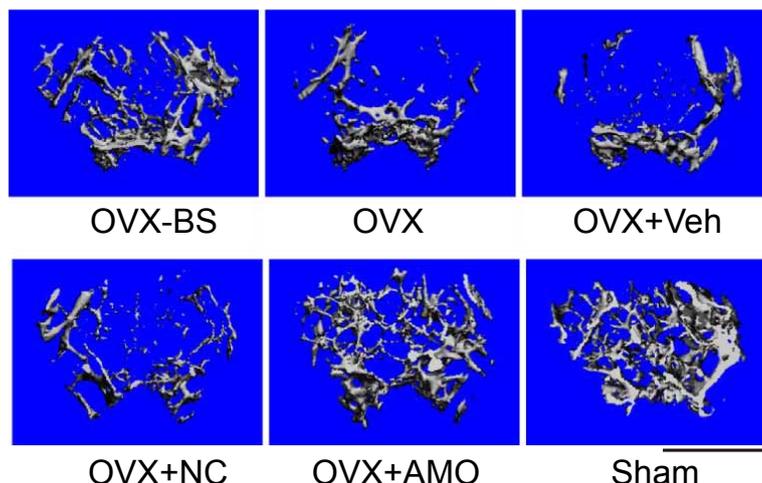
1. 61～89歳の老人性骨折を有する女性患者(n=40)の血清や血清エクソソーム中、骨検体中では、年齢適合対照群(n=20)に比較してmiR-214-3pの増加を認めた。また、破骨細胞マーカーCTSK, TRAcP5, Sema4Dは患者の血清中エクソソームで増加し、骨形成マーカーBGLAPは低下した。

2. OVXマウスも骨形成率の低下に伴い全血清中および血清中エクソソームのmiR-214-3p増加を示した。

3. マウスおよびヒトにおいて、miR-214-3pは骨芽細胞よりも成熟破骨細胞に多く発現することが判明した。

4. 破骨細胞特異的miR-214-3pノックインマウス(OC-miR-214-3pマウス)では同腹仔マウス(WTマウス)に比較し、破骨細胞数が増加し、破骨細胞から産生されるmiR-214-3pの増加とともに、骨形成マーカーAlp, Opn, Bsp, Bglapの低下と骨形成率、骨量の低下を認めた。

5. OC-miR-214-3pマウスに対し、antagomiR-214-3pを(D-Asp₈)-liposomeを用い破骨細胞を標的として遺伝子導入した。antagomiR-214-3pの週1回投与を4週間行くと、OC-miR-214-3pマウスの骨形成率、骨量はWTマウスと同程度まで回復した。



【図】OVXマウスにantagomiR-214-3p(AMO)を8週間投与した後の大腿骨遠位端のマイクロCT画像。Shamマウスに比べ投与開始前(OVX-BS)に減少した骨量は、8週間後、未処置群(OVX)、vehicle control群(OVX+Veh)、nonsense control群(OVX+NC)ではさらに減少したが、AMO投与群(OVX+AMO)ではShamマウスと同程度までの骨量回復を認める。

ウスと同程度まで回復した。

6. OC-miR-214-3pマウスの破骨細胞と骨芽細胞とを共培養すると、骨芽細胞の骨形成マーカーAlp, Opn, Bsp, Bglapは低下した。この低下はmiR-214-3pの標的遺伝子であるATF4 mRNA 3' UTRを導入することで、WTマウスの破骨細胞と共培養した骨芽細胞と同程度まで回復した。

7. PKH67で蛍光ラベルしたOC-miR-214-3pマウス破骨細胞由来エクソソームを、C57BL/6Jマウスに静脈投与したところ、投与4時間で骨に集積し骨芽細胞に取り込まれた。また、OC-miR-214-3pマウス破骨細胞由来エクソソームの投与は、WTマウス破骨細胞由来エクソソームの投与に比べて骨形成マーカー、骨形成率、骨量をより強く低下させた。

8. OVXマウスにantagomiR-214-3pを投与すると、破骨細胞のmiR-214-3p発現は減少し、加齢に伴い低下した骨量、骨形成率は回復した(図)。

■結論

破骨細胞によって生成された血清中エクソソームのmiR-214-3pは、骨芽細胞による骨形成を抑制し骨量減少に関与することが明らかとなった。さらに、破骨細胞のmiR-214-3p阻害が、骨形成が減少する骨疾患の治療戦略として有効である可能性が示された。

■コメント■

破骨細胞を標的とした遺伝子導入法や、その標的をmiRNAとしたことなど、新しいアプローチと知見に富む研究である。遺伝子治療は数々の疾患に応用できる技術であるが、安全性やコスト、倫理面など未だ発展途上でもある。本研究のような基礎研究結果の蓄積がこれからも必要であろう。

徳島大学生体材料工学 日浅 雅博

進行性骨化性線維異形成症における ACVR1 の新たな機能

Neofunction of ACVR1 in fibrodysplasia ossificans progressiva

Hino K, Ikeya M, Horigome K, Matsumoto Y, Ebise H, Nishio M, Sekiguchi K, Shibata M, Nagata S, Matsuda S, and Toguchida J

Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 112 : 15438-15443, 2016

© 2016 by The National Academy of Sciences of the USA. PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

背景

進行性骨化性線維異形成症 (FOP) は、筋肉や腱、靭帯などの軟部組織に異所性の骨化を発症する希少難病である。これまでの研究から、骨形成増殖因子BMPの受容体ファミリーの1つである ACVR1 遺伝子に突然変異が生じ、BMPシグナルを過剰に伝えることで、異所性骨化が形成されると考えられているが、その発症に至る詳しいメカニズムは不明であった。

方法と結果

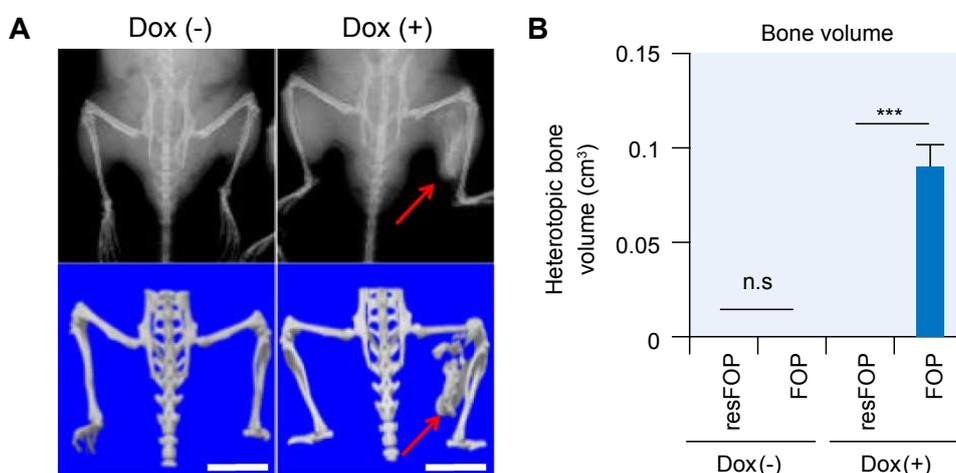
これまでに研究グループは、FOP患者から疾患iPS細胞 (FOP-iPS細胞) と変異型 ACVR1 遺伝子をゲノム編集技術により正常に修復した対照iPS細胞 (resFOP-iPS細胞) の樹立に成功している。また、iPS細胞から間葉系間質細胞 (iMS細胞) を経て、軟骨へと分化させる方法も確立している (*Stem cells*. 33 (6) 1730, 2015)。

これらの研究デバイスを活用し、本研究では、resFOP-iPS細胞に反応せず、FOP-iPS細胞でのみBMPシグナルを活性化するリガンドのスクリーニング系を確立した。まず、それぞれのiPS細胞から間葉系間質細胞 (resFOP-iMS細胞, FOP-iMS細胞) を作製後、BMPシグナルが活性化されると発動するルシフェラーゼ・レポーター遺伝子を導入した。TGF- β ファミリーに属するBMPと

類似のリガンド、27種類の反応を検討した結果、アクチビンAに極めて高い活性化が見出された。さらに、FOP-iMS細胞の変異型 ACVR1 をノックダウンすると、BMPシグナルの活性化は欠失した。これらの結果から、アクチビンAが、変異型 ACVR1 を介して異常なBMPシグナル伝達を引き起こすことが明らかになった。

次に、2次元マイクロマスタ培養法により軟骨への誘導能を解析したところ、FOP-iMS細胞ではアクチビンAにより、大きな軟骨様組織が形成された。また、アクチビンA阻害剤で、この軟骨化は抑制されることも見出された。また、3次元軟骨ペレット培養系でも、アクチビンAは、FOP細胞でより成熟した軟骨様組織を形成し、FOP-iMS細胞由来軟骨組織では、Col10a1やVegfaなどの軟骨マーカー遺伝子の高発現が確認された。さらに、これらの軟骨ペレットを免疫不全マウスに移植すると、FOP細胞由来軟骨ペレットでは高頻度に骨が形成される一方で、resFOP細胞由来軟骨ペレットでは、骨化がほぼ生じなかった。

resFOP-iMS細胞またはFOP-iMS細胞と、ドキシサイクリン誘導性アクチビンA発現細胞を混合して、免疫不全マウスに移植したところ、アクチビンAを誘導した場合だけ、FOP細胞の移植部位に異所性骨の形成が認められた(図)。



【図】 FOP-iPS細胞由来間葉系間質細胞を用いた生体レベルでの異所性骨化モデル resFOP-iMS(左足側)またはFOP-iMS細胞(右足側)と、ドキシサイクリン(Dox)誘導性アクチビンA発現細胞の混合移植。アクチビンAを誘導した場合だけ、FOP細胞の移植部位に異所性骨が形成される。

A: X線解析(上段), μ CT解析(下段)

B: 異所性骨形成率

Keywords

進行性骨化性線維異形成症 (fibrodysplasia ossificans progressive: FOP), アクチビンA, ACVR1

本文目次

■結論

以上の結果から、本来、TGF- β シグナルを伝えるアクチビンAが、FOP細胞ではBMPシグナルを伝え、骨軟骨形成を促進することが明らかになった。このメカニズムがFOPにおける異所性の骨化形成の病因である可能性が高く、アクチビンAを標的とし阻害することで、革新的なFOP治療戦略が確立される可能性が示された。

■コメント■

FOP患者から樹立された疾患iPS細胞を用いた異所性骨形成モデルの樹立と細胞レベルでのスクリーニング系の構築は、本領域研究において実に大きな成果であり、革新的な創薬の開発に役立つことが期待される。一方、変異型ACVR1に恒常的に過剰なBMPシグナルが伝達されることが重要なのか？リガンド結合とシグナル伝達の関係性は疾患発症にどのように寄与するのか？また、そのリガンド、アクチビンAの発現細胞や組織は何なのか？など、いずれも本領域研究の理解を深めるために、将来、解き明かされることを期待したい事案もいまだ残されていると考えられる。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 中島 友紀

骨格系前駆細胞における Notch シグナルは骨折治癒に重要である

NOTCH signaling in skeletal progenitors is critical for fracture repair

Wang C, Inzana JA, Mirando AJ, Ren Y, Liu Z, Shen J, O'Keefe RJ, Awad HA, and Hilton MJ

The Journal of Clinical Investigation 126 : 1471-1481, 2016

© 2016 American Society for Clinical Investigation

■背景, 目的

Notchは約270kDaの1回膜貫通型タンパク質で、線虫からヒトにいたる多細胞生物において広く保存されており、細胞の運命決定や機能制御に関与する。骨形成においてNotchシグナルは骨髄間葉系幹細胞を未分化な状態に維持し、骨芽細胞分化を抑制することが報告されている (*Nat Med* 2008)。本研究では、骨折治癒過程におけるNotchシグナルの役割を検討した。

■方法, 結果

1. Notchの重要なシグナル伝達分子RBPjkを未分化間葉系細胞特異的に欠損させたマウス (*RBPjk^{Prx1}* マウス) を作製し、脛骨を骨折させることにより実験モデルとした。野生型マウスでは骨折後14日で仮骨の形成が見られた後、28日目でレントゲンの骨癒合が観察された。しかし、*RBPjk^{Prx1}* マウスでは術後14日目に外仮骨の過形成を認めたが、42日目においても骨癒合は見られなかった。

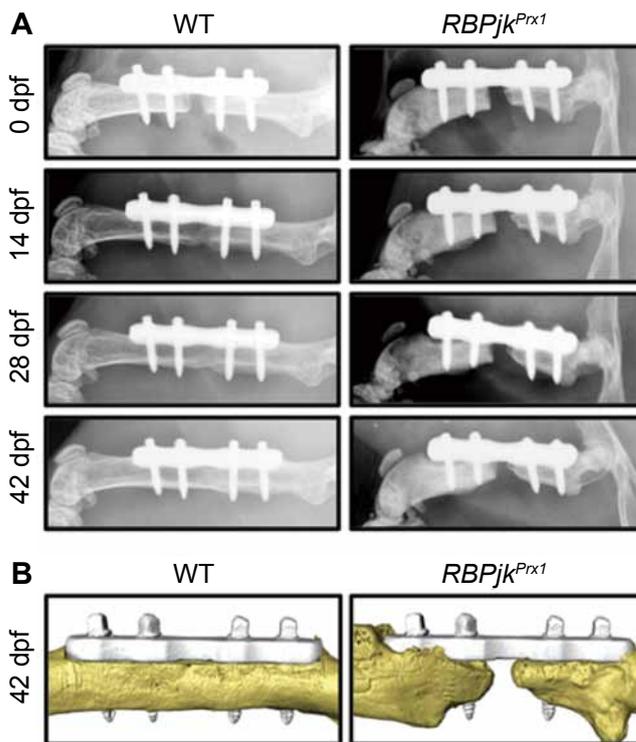
2. 組織学的検討の結果、*RBPjk^{Prx1}* マウスでは内仮骨形成が全く見られず、骨折部は42日目までⅢ型コラーゲン (Col3a1) 陽性の線維組織で占められていることが明らかとなった。

3. 骨折後42日目の脛骨を用いた骨強度試験において、*RBPjk^{Prx1}* マウスは野生型マウスに比較して物理的強度が著明に低下していた。

4. マウス用チタンプレートを用いて骨折部を固定しても、*RBPjk^{Prx1}* マウスの骨折は骨癒合しなかった (図参照)。

5. 骨折部におけるPECAM陽性の血管内皮細胞およびTRAP染色陽性の破骨細胞の数は、*RBPjk^{Prx1}* マウスと野生型で変化は見られなかった。

6. 骨折後42日目の*RBPjk^{Prx1}* マウスおよび野生型マウスの骨髄細胞のコロニー形成を比較したところ *RBPjk^{Prx1}* マウスの骨髄細胞では、間葉系細胞コロニー数 (CFU-F) および骨芽細胞コロニー数 (CFU-OB) がともに減少していた。



【図】 *RBPjk^{Prx1}* マウスにおける骨折治癒不全。2か月齢野生型マウス (WT) および未分化間葉系細胞特異的 *RBPjk* 遺伝子欠損マウス (*RBPjk^{Prx1}*) の大腿骨に1.2mmの骨欠損を作製し、チタンプレートで固定した。術後の骨折治癒をレントゲン写真 (図A) および μ CT画像 (図B) にて観察した。

7. 野生型マウスの骨髄間葉系細胞をNotchシグナル阻害剤DAPTで処理すると、CFU-Fの数が減少するとともに、間葉系幹細胞マーカーであるレプチン受容体の発現が低下した。一方、Alpとオステオカルシンの発現は増加していた。

8. 成熟骨芽細胞特異的にNotchシグナルを不活性化させたマウス (*RBPjk^{Col1}*)、および軟骨細胞特異的にNotchシグナルを不活性化させたマウス (*RBPjk^{AcanTM}* マウス) では、骨折治癒に異常は見られなかった。

■結論

骨折治癒過程において、Notchシグナルは骨芽細胞や軟骨細胞ではなく、骨折部における骨髄間葉系幹細胞の維持や機能に重要であることが明らかとなった。

■コメント■

骨折治癒過程の骨芽細胞ではなくその前駆細胞である骨髄間葉系幹細胞におけるNotchシグナルの重要性を証明した本研究は、骨折治癒の新たな視点からの分子メカニズムを提示した点で興味深い。現在まで骨折治癒促進薬剤の多くはBMP2をはじめとして骨芽細胞をターゲットに検討されてきたが、本研究はNotchシグナルが新しい治療標的となる可能性を示しており、今後の研究の進展に期待したい。

大阪大学大学院歯学研究科生化学教室 波多 賢二

卵巣除去ラットに対する抗スクレロスチン抗体投与に関連した骨芽系統細胞における細胞及び転写の時系列的変化

Time-dependent cellular and transcriptional changes in the osteoblast lineage associated with sclerostin antibody treatment in ovariectomized rats

Taylor S, Ominsky MS, Hu R, Pacheco E, He YD, Brown DL, Aguirre JI, Wronski TJ, Buntich S, Afshari CA, Pyrah I, Nioi P, and Boyce RW

Bone 84 : 148-159, 2016

© 2016 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

■序文

スクレロスチンは骨細胞分泌因子であり骨芽細胞の古典的 Wnt 経路を阻害することで骨形成に抑制的に作用する。抗スクレロスチン抗体 (Scl-Ab) を長期投与すると持続的な骨吸収抑制が見られる一方で、骨形成指標は早期の上昇の後、徐々に低下していくことが報告されている。この Scl-Ab 長期投与に伴う骨形成指標の変化が骨芽系統細胞での転写発現の変化とどのように関連しているかが本研究では提示されている。

■方法と結果

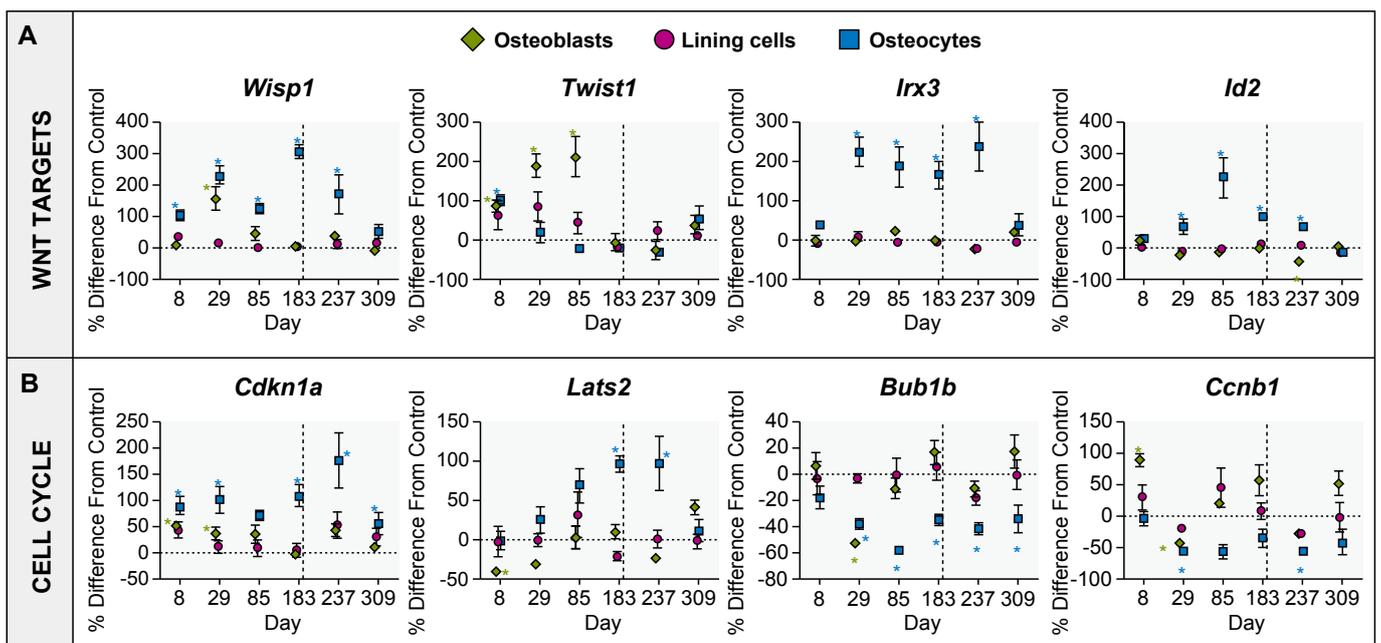
6ヵ月齢メスの Sprague-Dawley ラットに対して卵巣切除 8 週経過後、Scl-Ab を 3mg/kg/週、50mg/kg/週、コントロール群に分けて 183 日間投与した。投与期間及び投与中止後にわたって骨形態計測、立体解剖学的細胞計測を行った。

また、レーザーマイクロダイセクション法 (LMD) に

より L3 椎体の凍結切片から、骨芽細胞、骨表層細胞、骨細胞のいずれかに富む組織を切り分け、mRNA を抽出した。マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い、各遺伝子の時期的変化を評価した。

骨形態計測の結果、Scl-Ab 投与群で骨密度 (BV/TV) は薬剤投与期間中増加した。骨形成指標である骨形成速度 (BFR/BS) は薬剤投与 29 日まで用量依存的に増加しその後漸減した。骨芽細胞数も BFR/BS と同様の挙動を示した。

マイクロアレイの解析では、Scl-Ab 投与 8 日の時点では、いずれの細胞群でも *Twist1* や *Wisp1* の様な古典的 Wnt 経路に関連する遺伝子の発現上昇が見られた。骨細胞において薬剤投与 29 日には、*Wisp1* が発現レベルを保っていたのに対して *Twist1* はコントロールと同レベルに低下し、*Irx3* や *Id2* といった他の Wnt 標的因子は発現が上昇した (図 A)。



【図】 Scl-Ab 50mg/kg 投与群において骨系統細胞それぞれでの Wnt 標的因子(A)および細胞周期制御因子(B)の遺伝子発現の時系列的変化。縦軸はコントロール群との比較値。横軸は Scl-Ab 投与開始後日数。平均±標準誤差。

Keywords 抗スクレロスチン抗体, 骨芽系統細胞, マイクロアレイによる遺伝子発現解析, Wnt経路, 細胞周期

本文目次

Scl-Ab投与によって細胞周期制御因子も影響を受けた。骨細胞において29日には、p53の標的因子で癌抑制遺伝子である*Cdkn1a* (*p21*) や*Lats2*が増加しその後もレベルを維持したのに対し、細胞周期に関連する因子(*Bub1b*, *Ccnb1*等)は発現が低下した(図B)。

■結論

Scl-Ab投与により初期には古典的Wnt経路が活性化された。長期的にはWnt経路関連因子の変化とともに細胞周期制御因子が活性化され、骨芽系統細胞の増加に制限がかかることで自己調節機能が働くと考えられた。

■コメント■

本研究における遺伝子発現解析では実際に骨形成機能を担う骨芽細胞よりも骨細胞に顕著にScl-Ab投与に伴う変化が見られた。骨細胞から骨芽前駆細胞、骨芽細胞へのシグナル伝達が間接的に関与していると想像される。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科学 小山 卓摩

LGR4はRANKLの受容体で破骨細胞分化と骨吸収を負に制御する

LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption

Luo J, Yang Z, Ma Y, Yue Z, Lin H, Qu G, Huang J, Dai W, Li C, Zheng C, Xu L, Chen H, Wang J, Li D, Siwko S, Penninger JM, Ning G, Xiao J, and Liu M

Nature Medicine 22 : 539-546, 2016

© 2016 Nature America, Inc. All rights reserved.

背景

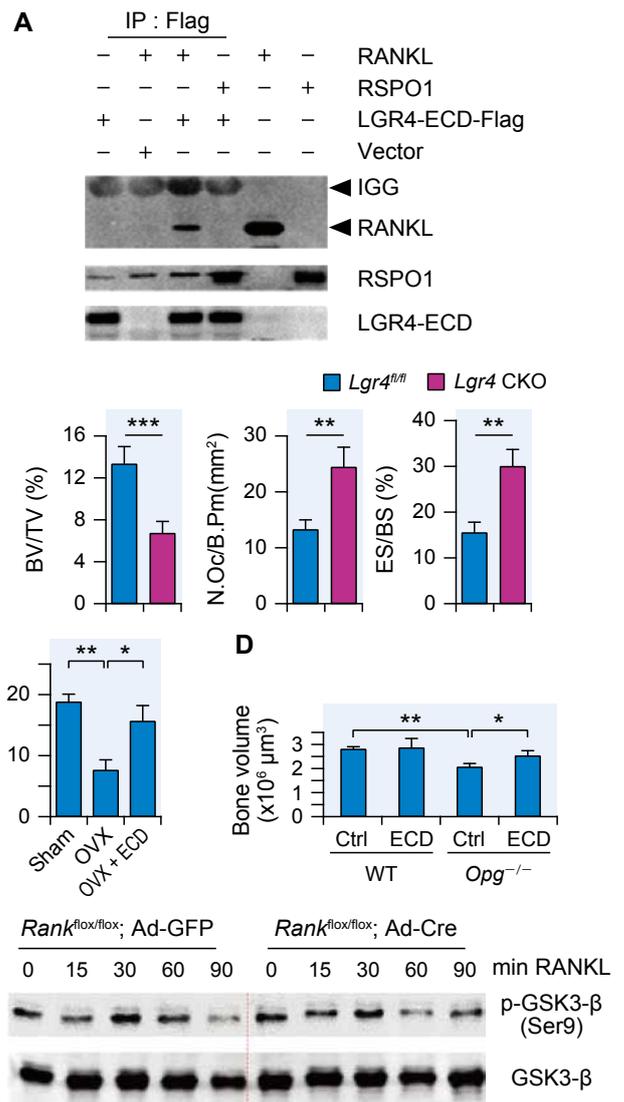
Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 4 (LGR4)はリガンドであるR-spondin (RSPO) 1~4, Norrinにより活性化し、生殖器、乳腺、泌尿器、消化器など多様な組織で発現し、細胞増殖や分化、運命決定に関わることが知られている。これまで、ヒトLGR4のナンセンス変異は低骨密度・骨粗鬆症性骨折との相関が報告されているが、その分子メカニズムは不明であった。

方法と結果

著者らはRANKLとLGR4が同じ経路で機能するという仮説のもと、RANKLと直接的にLGR4が結合するかどうかを調べた。共免疫沈降法(図A)、表面プラズモン共鳴法、結晶構造のシミュレーション、細胞内局在により、LGR4がRANKLと直接的に結合し、その結合領域はRSPOとは異なることを発見した。また、RSPO1はLGR4-RANKL結合を濃度依存的に抑制した。Lgr4はRANKL刺激前には発現しておらず、RANKL刺激後NFATc1依存的に発現が上昇することも示された。

Lgr4^{-/-}とLysM-Cre; Lgr4^{fl/fl}マウスの骨表現型を調べたところ、骨量減少、破骨細胞数・面、骨吸収面上昇をみとめた(図B)。さらに、LGR4の細胞外ドメイン(ECD)を用い、骨粗鬆症モデル・骨破壊モデルマウスにおける治療効果を検討した。卵巣摘出、RANKL投与、OPG欠損マウスのいずれにおいても、LGR4-ECD投与によって破骨細胞活性を低下させ、骨量を増加させた一方、野生型マウスでは破骨細胞や骨量にほとんど影響を与えなかった(図C, D)。また、*in vitro*でLgr4欠損細胞は高い破骨細胞分化・生存能を有し、骨吸収活性も上昇していた。RSPO1~4, Norrinは*in vitro*において破骨細胞単培養系には影響がなかったことから、LGR4はRANKL誘導性破骨細胞の分化・生存・機能を抑制することが示唆された。

次に、著者らはLGR4が通常のRANKL-RANKシグナル伝達経路に影響するかどうかを調べた。LGR4-ECDは用量依存的に、RANKLのRANKへの結合やその下



【図】LGR4による破骨細胞分化抑制。(A) LGR4-ECD-FLAGとRANKL, RSPO1を強制発現させたHEK293T細胞における相互作用の解析。(B) 15週齢のLgr4^{fl/fl}マウスとLgr4^{fl/fl}; LysM-Cre (Lgr4 CKO)マウスにおける、上腕骨μCT解析による骨量と8週齢の大腿骨における破骨細胞数・骨吸収面。(C) 卵巣摘出(OVX)1ヵ月後からLGR4-ECD(ECD)を5週間毎日、1mg/kg体重で尾静脈から投与したマウスにおける大腿骨の骨量。(D) LGR4-ECDを2週間毎日、1mg/kg体重で尾静脈から投与した5ヵ月齢の野生型とOPG欠損マウスにおける頭蓋骨の骨量。(E) Tnfrsf11a^{fl/fl}マウス由来骨髓マクロファージをRANKL-M-CSF刺激4日後、GFPかCreを発現するアデノウイルスを感染させ、RANKL刺激した後のGSK3-β Ser9のリン酸化。*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001。

流シグナルを阻害したことから、RANKLへの結合に関してLGR4がRANKと競合することが示された。また、RANKL-LGR4によって誘導される細胞内シグナルとして、LGR4を強制発現するHEK293T細胞へのRANKL刺激がSRE-lucと細胞内カルシウム放出を活性化し、この活性化は $G\alpha_q$ の抑制によって阻害されることが見出された。著者らは $G\alpha_q$ がGSK3- β Ser9のリン酸化の抑制を介してNFATc1の核内移行を抑制すると考えており、このRANKL誘導性のGSK3- β Ser9リン酸化はAdeno-Creを発現させた*Tnfrsf11a*^{fl/fl}細胞でも観察されたことから(図E)、RANKL誘導性のGSK3- β Ser9のリン酸化はRANK発現非依存的であると主張している。

■結論

LGR4は第二のRANKL受容体として機能し、RANKL-RANK結合の競合的な阻害とRANKL-LGR4- $G\alpha_q$ シグナルによって破骨細胞分化と骨吸収を負に制御する。

■コメント■

本論文の趣旨は非常に衝撃的であるが、様々な議論すべき点が残されている。特にRANK欠損状態でのLGR4シグナルを調べたデータは図Eだけであり、LGR4とRANKの発現が示されておらず、本当にRANKが存在しない状況でLGR4がRANKLの受容体として機能的であるかどうかは不明のままである。また、以前RANKの細胞外ドメインを投与することで通常マウスでも骨量増加がみられたということが報告されており(Oyajobi BO et al., *Cancer Res*, 2001)、通常マウスでLGR4-ECDの骨への効果が観察されなかった理由が内因性OPGによる競合であるという仮説と矛盾している。さらに、破骨前駆細胞特異的LGR4欠損マウスの解析からは、LGR4が破骨細胞分化に抑制的であるということしか示唆しておらず、*in vivo*におけるLGR4のリガンドに関しては未解明である。最近LGR4リガンドの一つであるRSPO2が骨芽細胞分化を促進し、骨芽細胞でのRANKL/OPG比を低下させることで破骨細胞分化を抑制することが報告され(Zhu C et al., *Cell Signal* 2016)、本論文の結果との関連が懸念される。さらに、RANKL-RANKシグナルは骨以外にも胸腺、腸管、乳腺、体温調節、インスリン抵抗性、がん転移などの様々なシステムでも重要であることから、LGR4の関与の解明が期待されると同時に、LGR4-ECDのそれらへの副作用も憂慮される。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 林 幹人, 中島 友紀

エルカトニン是非荷重による骨髓細胞のカルシトニン受容体の発現亢進を介して前破骨細胞融合を阻害することにより、非荷重による骨量減少を防止する

Elcatonin prevents bone loss caused by skeletal unloading by inhibiting preosteoclast fusion through the unloading-induced high expression of calcitonin receptors in bone marrow cells

Tsukamoto M, Menuki K, Murai T, Hatakeyama A, Takada S, Furukawa K, and Sakai A

Bone 85 : 70-80, 2016

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

背景

エルカトニン (EL) は鎮痛効果を持つことから、しばしば椎体骨折や大腿骨骨折後の安静の際に使用される。しかしながら、ELの非荷重状態における骨代謝への影響については明らかになっていない。

目的

ELが非荷重による骨動態に対して予防的効果を持つか否かを検討する。

方法

7週齢雄C57BL/6Jマウスの尾部懸垂を7日間行い、EL 20U/kgを3日毎に皮下投与し、非脱灰標本あるいは μ CTを用いて骨構造指標や破骨細胞数への影響を非尾部懸垂EL非投与 (GCveh)、非尾部懸垂EL投与 (GCEL)、尾部懸垂EL非投与 (TSveh) と比較検討した。血中骨代謝マーカーとしてTRACP-5bとP1NPを測定した。後肢骨髓細胞からmRNAを採取し、カルシトニン受容体 (Calcr) や破骨細胞分化因子の検討をリアルタイムPCRを用いて行った。

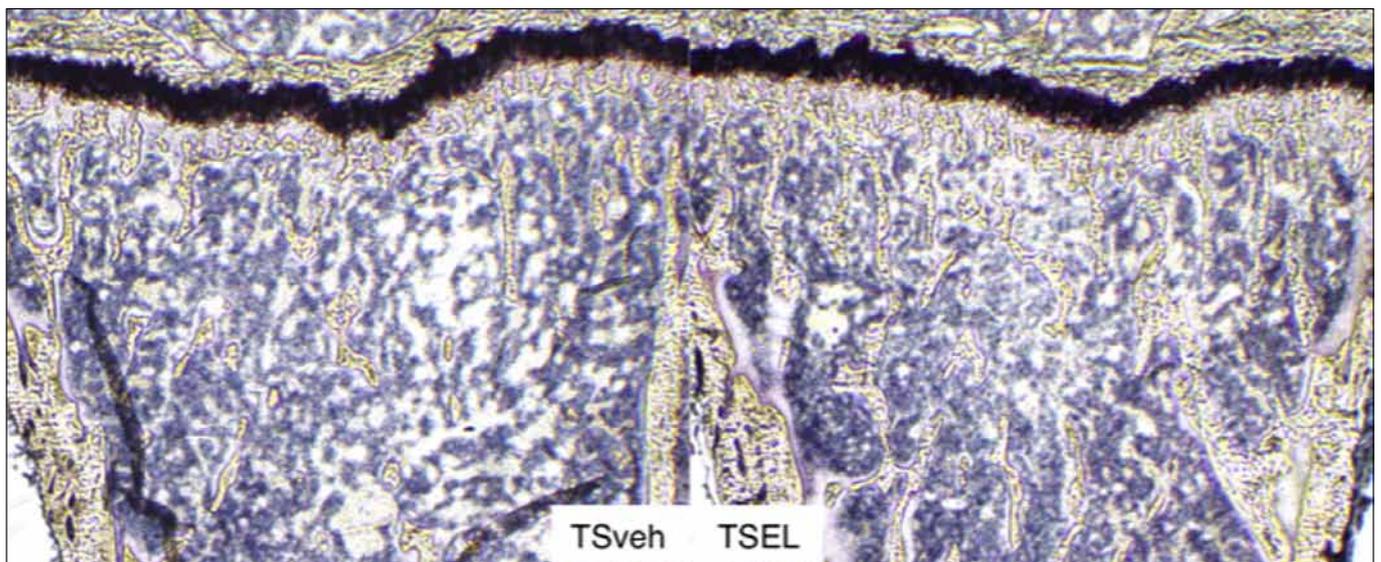
結果

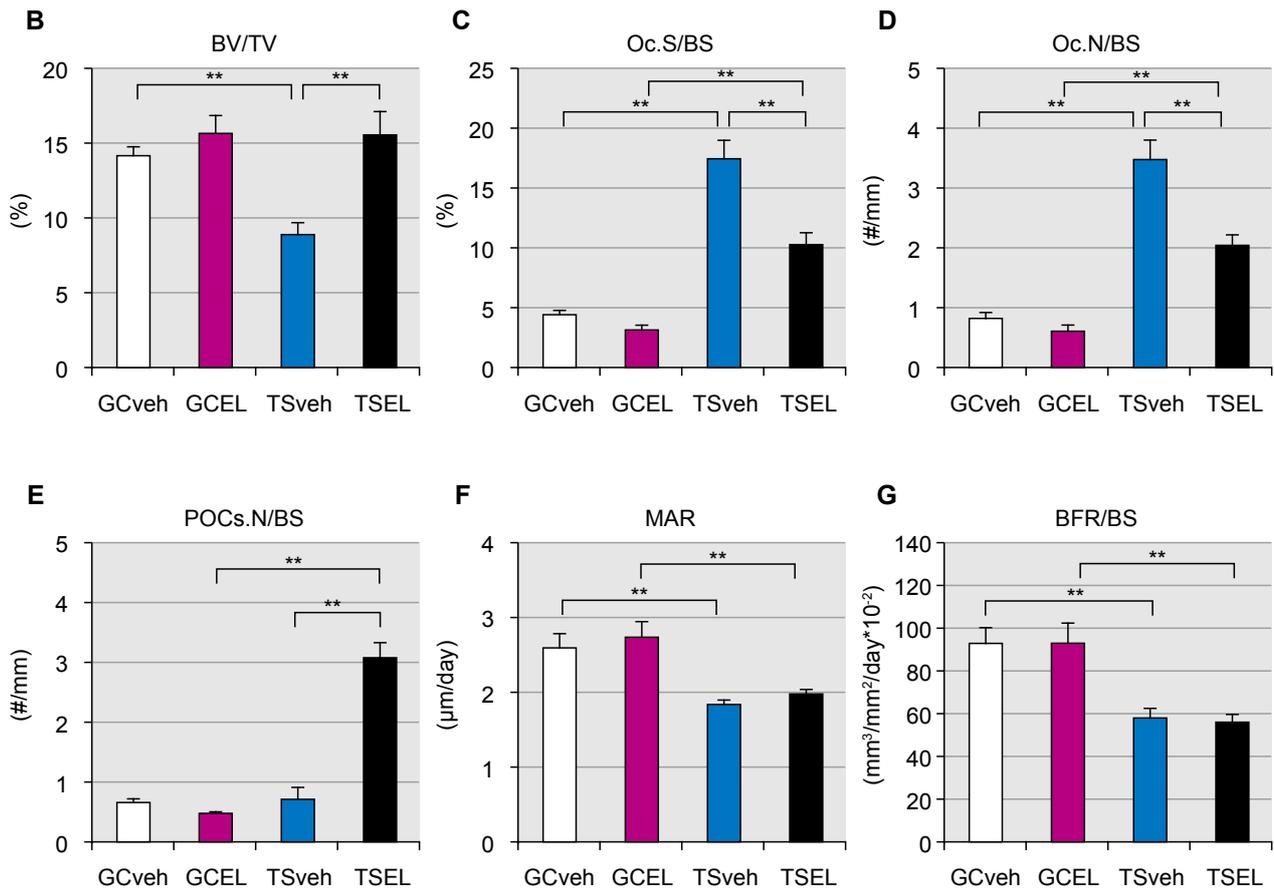
尾部懸垂EL投与 (TSEL) はTSvehに比較して、海綿骨の骨密度、骨量 (BV/TV) の有意な増加を認め、GCveh、GCELと同等であった (図)。TSELでは破骨細胞数などの骨吸収指標は有意に低下していたが、前破骨細胞数は増加していた。一方、非尾部懸垂、尾部懸垂ともにEL投与は骨形成指標に影響しなかった。さらにTSELでは血中TRACP-5b濃度は有意に低下していたが、P1NPに有意な変化はなかった。骨髓細胞培養では、TSELではTRACP陽性多核細胞数は減少していたが、TRACP陽性単核細胞数は増加していた。NFATc1, cathepsin K, ATP6V0D2のmRNA発現はTSELにおいて有意に減少していたのに対し、Calcr発現は有意に増加していた。

結論

尾部懸垂マウスでは、骨髓細胞中のCalcr発現が亢進することにより、ELの骨吸収抑制作用を増強して非荷重による骨量減少を防止することが示された。

A





【図】 脛骨近位端の組織形態計測による海綿骨量、骨吸収、骨形成の評価。(A)非脱灰標本写真(倍率、×100)、(B)骨量、(C)骨表面当たりの破骨細胞表面、(D)骨表面当たりの破骨細胞数、(E)骨表面当たりの前破骨細胞数、(F)骨石灰化速度、(G)骨表面当たりの骨形成速度。GCveh；非尾部懸垂EL非投与群、GCEL；非尾部懸垂EL投与群、TSveh；尾部懸垂EL非投与群、TSEL；尾部懸垂EL投与群。データは平均±標準誤差で示す(各群 n= 5)。**p <0.01.

■コメント■

カルシトニンは甲状腺C細胞で産生され、破骨細胞活性を抑制して骨吸収を阻害することが知られているが、ビスホスホネートや副甲状腺ホルモンなどの他の骨粗鬆症治療に比較して、骨量増加効果は弱く、骨粗鬆症治療薬としてのエビデンスは乏しいのが現状である。本検討では、EL投与は通常の荷重状態では骨量増加作用は認められなかったが、尾部懸垂による非荷重状態では骨量減少を有意に改善し、そのメカニズムとして骨髓細胞のCalcr上昇と前破骨細胞の細胞癒合の抑制が示されている。このことは安静状態における骨量減少を予防するためにELが有用である可能性を示唆する結果であり、ELの臨床的位置づけを考えるうえで重要な報告と考えられる。

島根大学医学部内科学講座内科学第一 金沢 一平

破骨細胞は骨内膜ニッチのリモデリングにより休眠中の骨髄腫細胞の再活性化を制御する

Osteoclasts control reactivation of dormant myeloma cells by remodelling the endosteal niche

Lawson MA, McDonald MM, Kovacic N, Hua Khoo W, Terry RL, Down J, Kaplan W, Paton-Hough J, Fellows C, Pettitt JA, Neil Dear T, Van Valckenborgh E, Baldock PA, Rogers MJ, Eaton CL, Vanderkerken K, Pettit AR, Quinn JM, Zannettino AC, Phan TG, and Croucher PI

Nature Communications 6 : 8983, 2016

© 2016 Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

背景・目的

多発性骨髄腫 (MM) は特異的分子標的薬剤がいくつか開発されているが、今なお難治である。MMの再発は骨髄内のニッチで休眠中のMM細胞の再活動が引き金になると推測されているが、休眠中のMM細胞の再活性化に骨内膜ニッチがどのように関与するかは不明である。本研究では生体イメージングを用いて休眠中のMM細胞を追跡し、骨芽細胞や破骨細胞で構成される骨内膜ニッチの変化がMM細胞の休眠に及ぼす影響を検討した。

方法・結果

1. C57BL/KaLwRijHsd マウスに5TGM1-eGFPMM細胞を静注し、脛骨骨髄内の生体イメージングにより個々のMM細胞が脛骨の骨内膜ニッチに分布することを確認した。

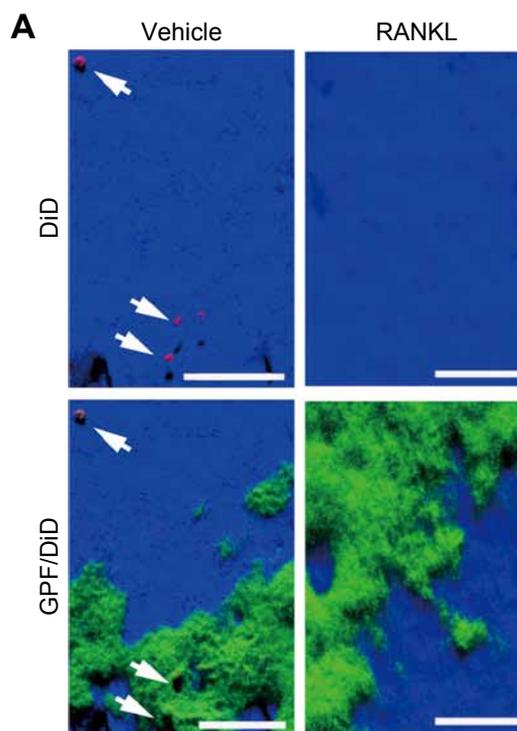
2. 5TGM1-eGFPMM細胞をDiDで細胞膜染色しMM細胞間での増殖の違いを生体イメージングとFACS解析で検討した。DiD標識した5TGM1-eGFP細胞はマウスに注入直後はGFP⁺DiD^{hi}であったが、分裂によるDiD標識の希釈に伴いGFP⁺DiD^{neg}細胞が増加した。しかし、GFP⁺DiD^{neg}細胞が増加してもGFP⁺DiD⁺細胞も残存していた。

3. GFP⁺DiD^{hi}細胞はGFP⁺DiD^{neg}細胞よりもG₀期のMM細胞が多く、G₁, S, G₂/M期は少なかった。また、GFP⁺DiD^{hi}細胞はGFP⁺DiD^{neg}細胞よりも細胞周期や自己複製に関与する遺伝子の発現が減少していた。これらの結果より、DiD標識が長期に維持される休眠状態のGFP⁺DiD^{hi}細胞の存在が明らかとなった。

4. GFP⁺DiD^{hi}細胞は骨内膜表面に直接接触し、GFP⁺DiD^{neg}細胞は骨表面から離れた部位に存在していた。

5. GFP⁺DiD^{hi}MM細胞を移植したマウスの生体イメージングにより、7日目では骨内膜面に存在した休眠状態のGFP⁺DiD^{hi}細胞は、骨吸収に伴い、14, 21日目ではGFP⁺DiD^{neg}細胞に変化した。

6. 担癌マウスにメルファランを投与したところ、腫瘍サイズは縮小したが、GFP⁺DiD^{hi}細胞は依然として骨内膜面に残存していた。

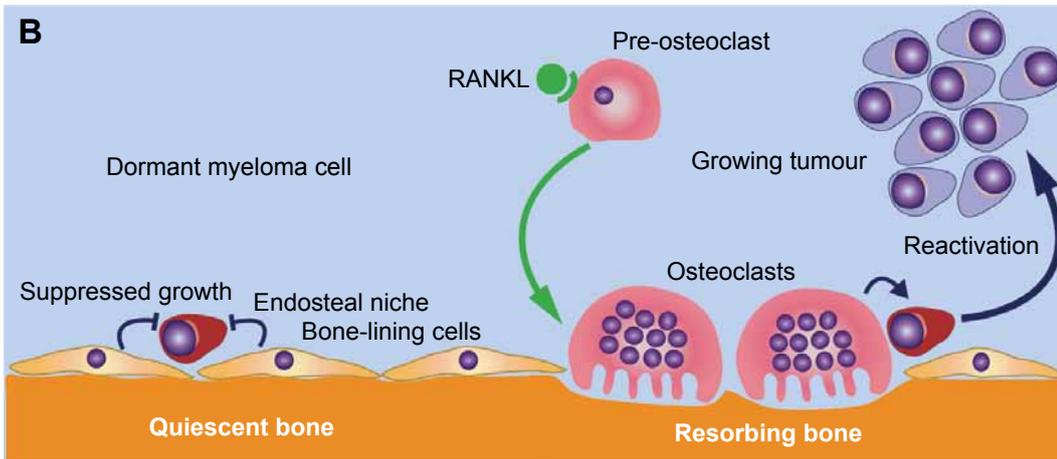


【図A】 sRANKL投与による休眠中骨髄腫細胞への影響を測定した。sRANKL投与によって休眠中骨髄腫細胞(GFP⁺DiD^{hi}細胞, 矢印)は消失し、代わりに増殖活性の高いGFP⁺DiD^{neg}細胞が多数見られる。

7. GFP⁺DiD^{hi}細胞がMM再発に関与することを検討するために担癌マウスにメルファランを14日間投与し、残存するGFP⁺DiD^{hi}細胞を追跡した。メルファラン投与を中止すると残存していた休眠状態のGFP⁺DiD^{hi}細胞が再増殖を開始し、GFP⁺DiD^{neg}細胞の腫瘍塊を形成した。

8. 骨髄微小環境の変化がMMの進行や再発に及ぼす影響を検討するために、担癌マウスにsRANKLを投与すると骨吸収の促進による骨量の減少とともに、GFP⁺DiD^{hi}細胞が減少した(図A)。

9. MM患者(118名)において血中CTXレベルとβ2ミクログロブリンレベルとは相関しており骨吸収と腫瘍サイズに相関を認めた。



【図B】本研究のシエマ。休眠中のMM細胞は骨表面に固く保持されているが、破骨細胞による骨吸収で解放されると再増殖を開始する。

■結論

本研究により、骨芽細胞や骨裏装細胞はMM細胞を休眠状態に維持し、一方破骨細胞はMM細胞を休眠状態から再活性化させることを明らかにした(図B)。本研究の結果は骨内膜ニッチの環境変化がMM細胞の休眠状態を制御する中枢であり、薬剤抵抗性や再発を克服する標的としての可能性を示した。

■コメント■

本研究は、MM治療に抗ガン剤に加え骨吸収促進剤の使用が休眠期MM細胞の再活性化を防ぎ、長期的な小児状態を維持するのに重要であることを示唆している。乳がんでは再発高リスク患者を対象とした術後補助療法としてビスホスホネートやデノスマブの臨床試験が行われているが、骨髄腫ではどうであろうか。

徳島大学生体材料工学 日浅 雅博

PTH/PTHrP受容体は腎不全とがんの動物モデルにおいて悪液質に 関与する

PTH/PTHrP receptor mediates cachexia in models of kidney failure and cancer

Kir S, Komaba H, Garcia AP, Economopoulos KP, Liu W, Lanske B, Hodin RA, and Spiegelman BM

Cell Metabolism 23 : 315-323, 2016

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

■背景, 目的

悪液質はがん, 慢性腎不全 (CKD), あるいは心不全に合併して見られ, 基礎エネルギー消費の上昇と, 脂肪, 筋組織の喪失を伴う消耗性症候群である。著者らは以前にがんが産出する Parathyroid hormone-related protein (PTHrP) が熱発生遺伝子の増加と脂肪組織の喪失による悪液質に関与することを報告している。本研究ではCKDとがんにおいて見られる悪液質におけるPTHrP受容体の関与について検討した。

■方法, 結果

1. 腎臓の5/6を切除するとCKDが誘発され, マウスは悪液質と血中PTHrPレベルの上昇を示した。このマウスではO₂消費, 熱量およびCO₂産生が増加し, 体重も減少したが, 運動量の増加や摂食の減少は見られなかった。

2. さらにこのマウスでは精巣上体白色脂肪, 鼠径部白色脂肪, 肩甲骨間褐色脂肪, および腓腹筋の減少と, これらの組織での熱源遺伝子発現の誘導, 骨格筋の減少, ならびに*igf1* 遺伝子発現減少, 筋萎縮遺伝子発現の誘導を認めた。

3. PTH (1-34, または1-84) を正常マウスに投与する

とその脂肪組織内での熱発生が上昇した。

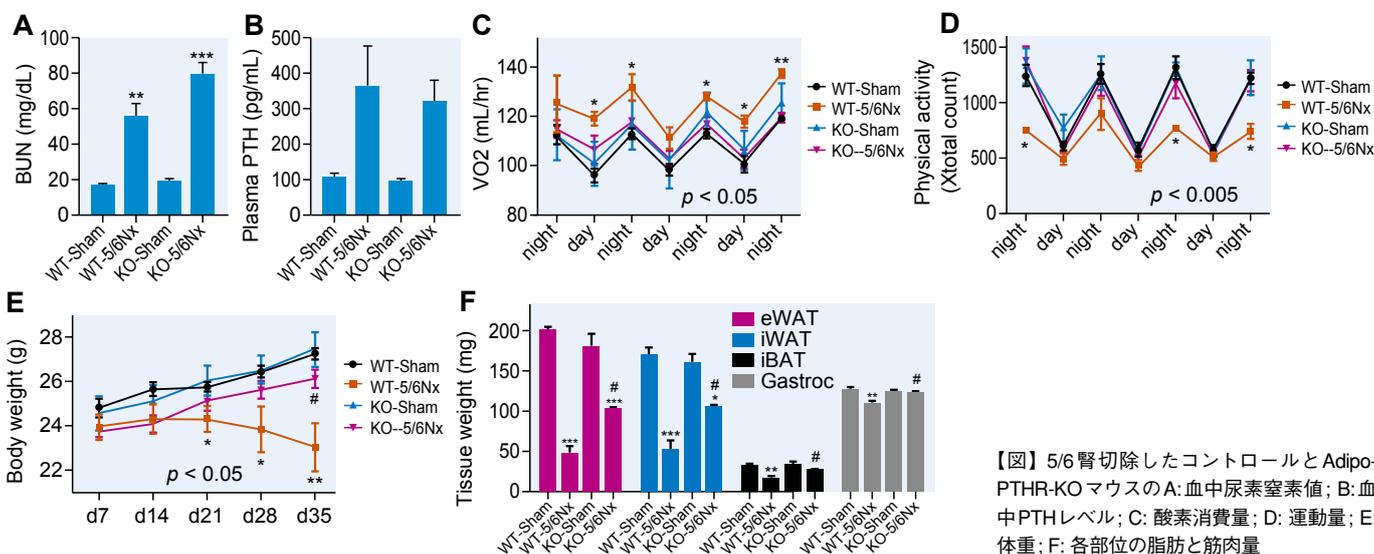
4. 血中PTHレベルが上昇している原発性副甲状腺機能亢進症の患者深部頸部脂肪では対照患者に比べて熱発生遺伝子発現が増加していた。

5. 脂肪組織特異的にPTH受容体を欠損するマウス (Adipo-PTHrP-KO) にPTHを投与しても白色および褐色脂肪での熱発生遺伝子発現は増加せず, またこのマウスから分離した脂肪細胞をPTHで処理しても悪液質関連遺伝子発現は誘導されなかった。

6. Adipo-PTHrP-KOとコントロールマウスの腎臓を5/6切除し悪液質を比べたところ, KOマウスではコントロールマウスで見られるような体重減少および脂肪組織と骨格筋の減少を認めなかった (図)。

7. 組織学的検索により, KOマウスではWTで見られる腎切除による脂肪小滴の縮小, 筋肉線維の萎縮, ならびに熱発生遺伝子発現の上昇は認められなかった。またKOマウスは腎切除後も十分な筋力を保持していた。

8. KOとコントロールマウスにLewis肺がん (LLC) を接種し, 腫瘍増大に伴う悪液質を比較したところ, KOマウスではコントロールマウスで見られるような体重減少および脂肪組織と骨格筋の減少を認めず, 組織学的に



【図】5/6腎切除したコントロールとAdipo-PTHrP-KOマウスのA:血中尿素窒素値; B:血中PTHレベル; C:酸素消費量; D:運動量; E:体重; F:各部位の脂肪と筋肉量

も脂肪小滴や筋線維の縮小は認められなかった。

■結論

本研究によりPTHrPおよびPTHはPTH受容体を通じた共通のメカニズムで悪液質誘発に関与し、さらに脂肪の減少は骨格筋の消耗につながることを示された。したがってPTH/PTHrP経路はヒトの悪液質治療のターゲットとして有望であることが示唆された。

■コメント■

悪液質は脂肪と筋肉の減少による体重低下を特徴とするが、PTH/PTHrPによる脂肪の減少が骨格筋量および強度にも影響することを示した点に本研究の新規性がある。しかし原発性副甲状腺機能亢進症患者でのデータがマウスほどには明確ではない点と、PTHrP中和抗体ががん患者やCKD患者の悪液質に効果を示すか否かが検討されるまでは本研究の結果は慎重に解釈されるべきであろう。

インディアナ大学医学部血液腫瘍内科学 米田 俊之

コレステロールはリガンドとしてERR α を活性化し，スタチンとビスホスホネートの薬理作用に関与する

Ligand activation of ERR α by cholesterol mediates statin and bisphosphonate effects

Wei W, Schwaid AG, Wang X, Wang X, Chen S, Chu Q, Saghatelian A, and Wan Y

Cell Metabolism 23 : 479-491, 2016

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

■背景・目的

エストロゲン関連受容体 (ERR) は，エストロゲン受容体 (ER) と高い相同性を有するが，そのリガンドは不明の核内受容体である。骨代謝における ER の重要性とその分子作用メカニズムの解明が進んでいるのに対して，ERR の生理的機能やそのメカニズムはほとんど解明されていない。本研究では，ERR α のリガンドの同定とその機能的役割について検討した。

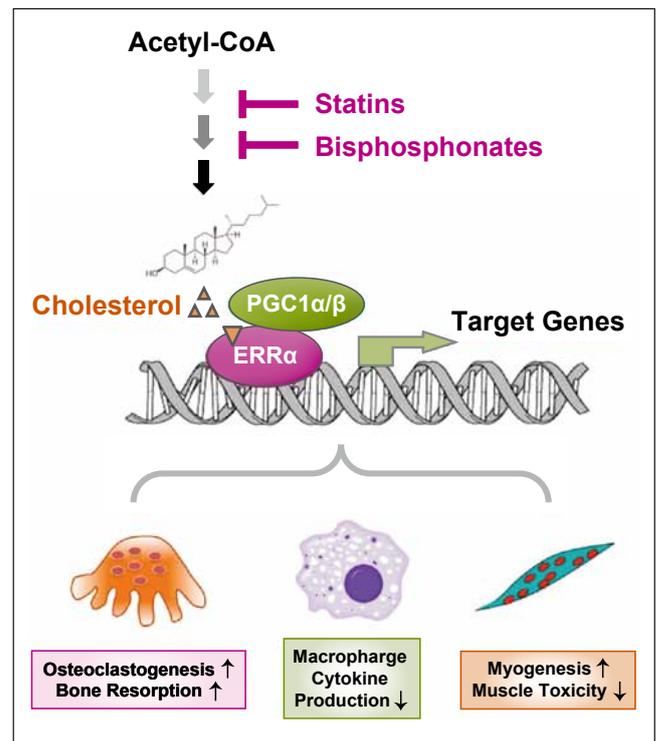
■方法・結果

1. His タグを付与した ERR α のリガンド結合領域リコンビナントタンパク質を，ERR α の発現量の高い脳より抽出した脂質成分と反応させた。結合した脂質をクロマトグラフィーにより抽出し，LS/MS による解析を行った結果，ERR α のリガンドとしてコレステロールが同定された。

2. タンパク質-リガンド結合部位予測システムを用いたコンピューター解析により，コレステロールはリガンド結合領域に存在する 235 番目のグルタミン酸 (E235) との水素結合，228 番目のロイシン (L228) および 232 番目のフェニルアラニン (F232) との疎水結合を介して ERR α に結合すると予測された。この結果に一致して，E235，L228 および F232 をそれぞれアラニンに変異させた ERR α では，コレステロールとの結合が顕著に減少した。

3. コレステロールは濃度依存的に ERR α の転写活性を促進するが，スタチンは ERR α の転写活性を抑制することが，レポーターアッセイにより明らかとなった。そのメカニズムとして，コレステロールは ERR α とその転写コアクチベーター PGC1 α の結合を促進することが免疫沈降法により確認された。4. スタチンの副作用の一つである横紋筋融解症に ERR α が関与するか否かを，ERR α KO マウスを用いて検討した。その結果，野生型マウスではスタチン投与により筋分化マーカー遺伝子の発現が低下したが，ERR α KO マウスでは筋組織の遺伝子発現変化は認められなかった。

5. コレステロールは，野生型マウスのマクロファージにおける LPS 誘導性のサイトカイン産生 (Cxcl9 および



【図】コレステロールは内在性リガンドとしてERR α に結合し，転写コアクチベーター PGC1 α をリクルートする。活性化したERR α は標的遺伝子の転写を促進し，破骨細胞による骨吸収促進，マクロファージにおけるサイトカインの産生阻害，ならびに筋細胞の分化を促進する。そして，スタチンおよびビスホスホネートはコレステロール合成阻害を介してこれらの作用を阻害する。

Cxcl10) を抑制したが，ERR α KO マウスのマクロファージではこの抑制作用は見られなかった。

6. コレステロールは破骨細胞におけるERR α 標的遺伝子群 (Aco2, IDH3a, VLCAD) の発現を増加させ，破骨細胞分化を促進した。

7. ERR α KO マウスでは野生型マウスに比較して破骨細胞数の低下と骨量増加が認められた。さらに，ERR α KO マウスの骨髓細胞ではコレステロールによる破骨細胞分化誘導作用も低下していた。

8. 野生型マウスにゾレドロン酸を投与すると，破骨細胞数および骨吸収マーカー CTX-1 の発現が著明に減

少し骨量が増加した。一方、ERR α KOマウスにゾレドロン酸を投与しても、破骨細胞数、CTX-1および骨量に変化は認められなかった。

9. 野生型マウスに高コレステロール食を与えると破骨細胞数の増加と骨量の減少が認められたが、ERR α KOマウスでは高コレステロール食による骨吸収の促進は見られなかった。

■結論

コレステロールは内在性リガンドとしてERR α を活性化し、筋組織や破骨細胞におけるスタチンやビスホスホネートの薬理作用に関与していることが明らかとなった(図参照)。

■コメント■

これまで不明であったERR α のリガンドとしてコレステロールを初めて同定し、ERR α への結合を通じたコレステロールの新たな機能として様々な細胞の遺伝子発現を直接制御することを見出した研究である。さらにビスホスホネートの作用にERR α が関与することも新知見である。コレステロールの増加は骨量のみならず様々な疾患に関与しており、ERR α を介した経路がどこまで関与しているのかに興味を持たれる。

大阪大学大学院歯学研究科生化学教室 波多 賢二

IL-17産生ガンマデルタT細胞は骨再生を促進する

IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration

Ono T, Okamoto K, Nakashima T, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, and Takayanagi H

Nature Communications 7 : 10928, 2016

© 2016 Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

背景

免疫応答は、病原体に対する生体防御だけでなく、組織の維持や損傷後の修復にも重要な役割を果たす。骨折や筋損傷などの組織損傷後の治癒過程にはリンパ球が関与するが、治癒を制御する特異的な免疫細胞やメディエーターは十分には解明されていない。特に、T細胞については血腫中に存在することが分かっているものの、骨折治癒における機能については不明な点が多い。

方法と結果

本研究では、マウス大腿骨にドリリングにより骨欠損を形成し、治癒過程におけるT細胞の機能を解析した。大腿骨損傷部位のT細胞関連サイトカインの発現を解析した結果、骨損傷に伴うIL-17Aの発現上昇を認められた。そこで、IL-17Aが骨折治癒に及ぼす影響を解析するために、IL-17A欠損マウスにおける骨再生を検討した。その結果、IL-17A欠損マウスでは野生型マウスと比較して、骨芽細胞による骨形成が低下することにより治癒が遅延していることが明らかになった(図)。一方、破骨細胞による骨吸収には差を認めなかった。

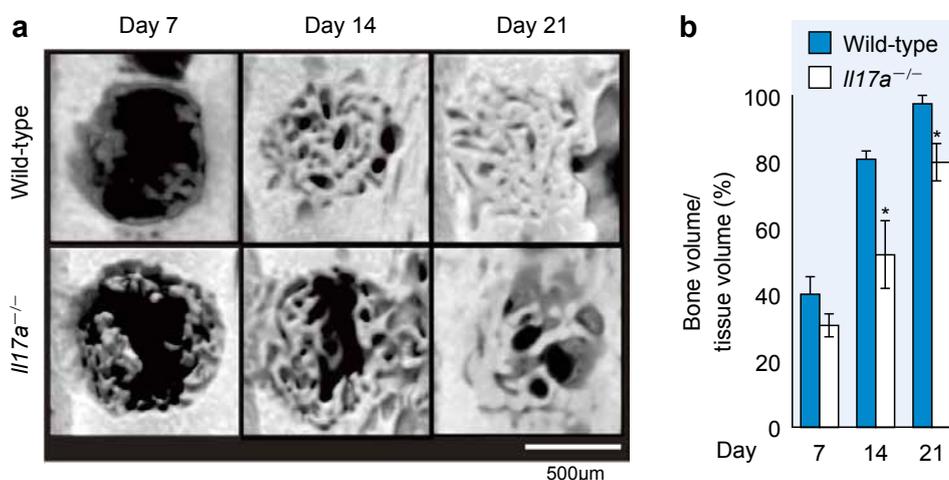
骨再生部位に含まれる骨芽細胞前駆細胞のIL-17受容体発現を検討したところ、一部の間葉系細胞がIL-17受

容体を発現していた。IL-17受容体陽性間葉系細胞の細胞表面マーカーの発現を解析したところ、その多くはPDGFR- α とSca-1の両方を発現するPaS細胞であった。IL-17Aは損傷組織より単離した間葉系細胞の増殖と骨芽細胞分化、石灰化を促進した。

IL-17A-GFPレポーターマウスを用いた解析により、骨損傷後早期に $\gamma\delta$ T細胞が増加し、IL-17Aを産生することが明らかになった。 $\gamma\delta$ T細胞は発現する γ 鎖により細分類されるが、骨折治癒過程ではV γ 6鎖を発現する $\gamma\delta$ T細胞が特にIL-17Aを産生することが見出された。 $\gamma\delta$ T細胞を欠損するマウスでは野生型マウスと比較して骨再生は遅延しており、骨折治癒における $\gamma\delta$ T細胞の重要性が示された。

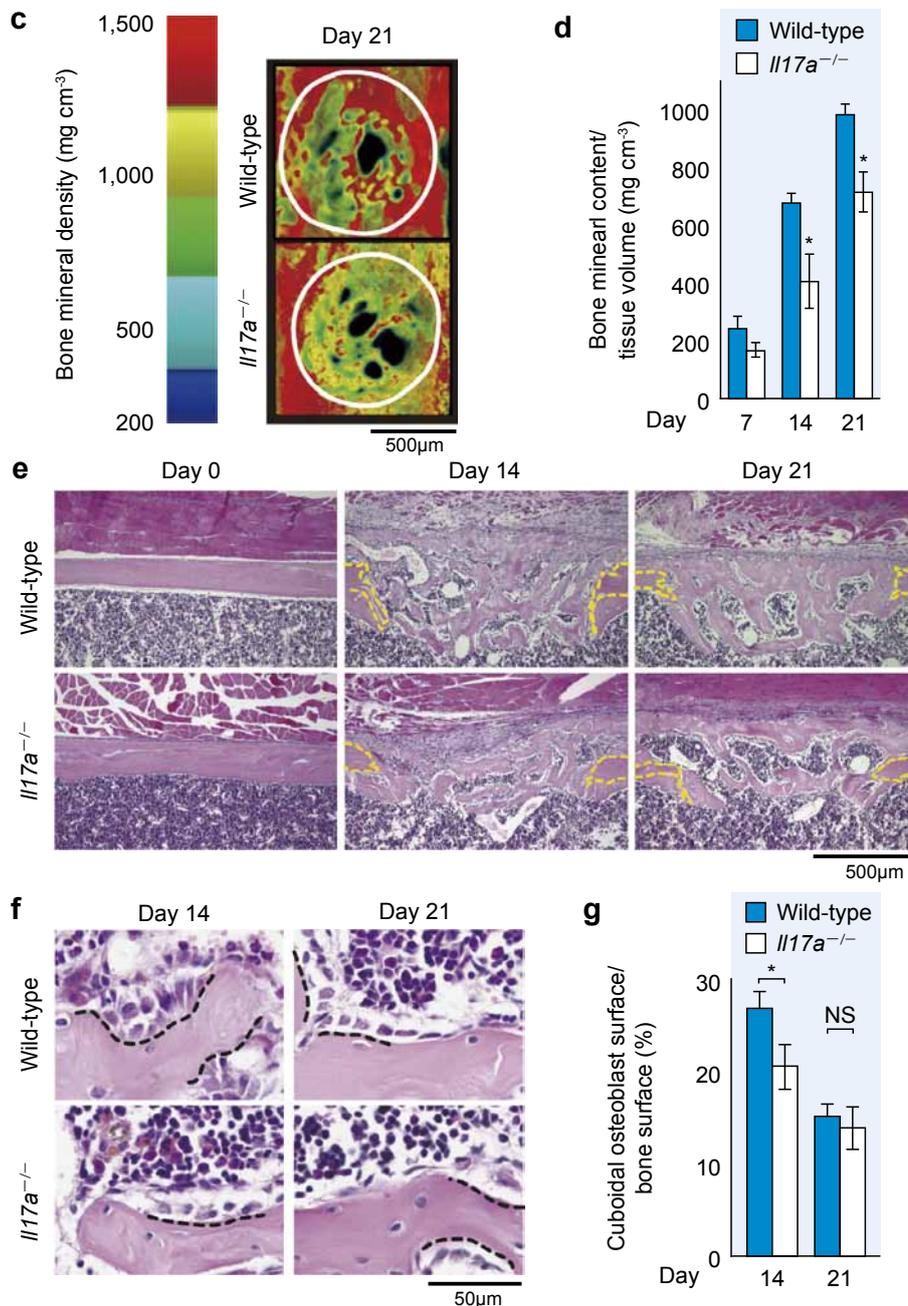
結論

筆者らは、 $\gamma\delta$ T細胞がIL-17Aを産生し、IL-17Aが骨形成を促進することで骨折治癒を早めることを示した。IL-17A欠損マウスでは、骨芽細胞による骨形成低下により、骨折治癒が障害された。IL-17Aは間葉系前駆細胞の増殖と骨芽細胞分化を刺激することで骨形成を促進した。本研究により、骨再生におけるIL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞の新しい役割が明らかにされた。



【図】 IL-17は骨芽細胞の活性化を介して骨折治癒を促進する

(a) 野生型及びIL-17A欠損マウスの骨欠損部のマイクロCT画像。(b) 欠損部における骨形成の定量的評価。IL-17A欠損マウスにおける治癒遅延を認めた。



【図】(c) マイクロCT画像とCT値をもとに作成した骨欠損部の骨密度画像。(d) 新生骨の骨塩量。IL-17A欠損マウスでは新生骨の骨塩量が低下した。(e) 野生型及びIL-17A欠損マウスの骨再生部のヘマトキシリン-エオシン染色像。IL-17A欠損マウスでは新生骨量が低下した。(f) 拡大像。骨形成能の高い立方形の骨芽細胞に被覆された骨面を点線で示す。(g) 骨形成の定量的評価。IL-17A欠損マウスにおける骨形成低下を認めた。

■コメント■

IL-17産生T細胞による骨代謝制御としては、関節リウマチなどで見られるような破骨細胞による骨吸収の促進作用がよく知られている。本研究により、病態によってはこれらの免疫系の因子が逆に骨形成を誘導することが示された。最近、別の研究グループもヒトの末梢血中のT細胞とヒト骨髄間葉系幹細胞を用いた実験により、IL-17およびT細胞による骨形成促進作用を報告した(Croes, *Bone*, 2016)。関節リウマチと骨折治癒ではIL-17の標的細胞、作用する時期(急性期/慢性期)など

が異なり、このことが同じサイトカインによる正反対の骨代謝制御につながると考えられる。

これまでは $\gamma\delta$ T細胞の筋骨格組織における存在は報告されておらず、本研究により $\gamma\delta$ T細胞の新しい役割が明らかにされた。今後、骨折時に $\gamma\delta$ T細胞が局所で増加し、活性化されるメカニズムが解明されれば、骨折部位の $\gamma\delta$ T細胞によるIL-17産生の促進を介した新規骨折治療法開発に繋がることが期待される。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 小野 岳人, 中島 友紀

骨細胞が、骨細管に沿い脱塩反応をきたす

Osteocyte-directed bone demineralization along canaliculi

Nango N, Kubota S, Hasegawa T, Yashiro W, Momose A, and Matsuo K

Bone 84 : 279-288, 2016

© 2015 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

■背景

骨小窩に存在する骨細胞は、 $1\mu\text{m}$ 未満の骨細管に樹状突起を伸ばす。骨吸収は破骨細胞が主に行っているが、骨細胞も骨小窩周囲の骨を溶解することは知られていた。しかし、骨細管周囲での脱塩反応は、立体的に理解できていなかった。

■方法と結果

シンクロトロンX線断層撮影は、骨小窩-骨細管など微細構造の分析に、有用な技術である。Hesseらが2014年に報告した、トルボット非焦点マルチスキャン断層撮影の手法を用いた。

皮質骨内には骨小窩-骨細管ネットワークがあり、骨膜および骨内膜からの血行がある。骨細管周囲の骨塩量変化を解析した。

骨細胞に連なる骨細管周囲には、円柱状に分布する骨塩の低濃度領域があり、骨細管を中心に骨塩量がV字形に低下していた(図)。

PTH類似ペプチドを持続投与すると、骨細胞による骨梁リモデリングは活性化される。PTHを持続投与したマウスでは、非投与群に比べ、骨細管周囲の骨塩量が有意に低下していた。

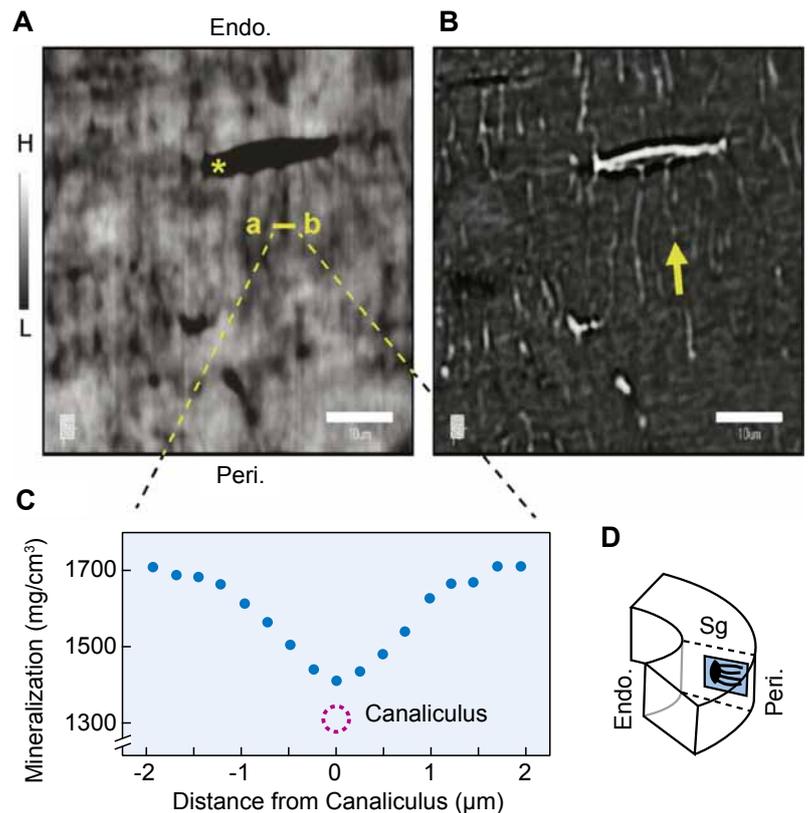
では破骨細胞は、骨細管周囲の溶骨変化に関与しないのか。RANKLの発現がない *Tnfsf11*^{-/-}マウスを用いた検討でも、骨小管周囲の低骨塩領域は存在した。よって、骨細管周囲の脱塩反応は、破骨細胞ではなく骨細胞によって起こることが示唆された。

■結論

皮質骨内の脱塩反応を特殊断層撮影で観察した。骨細胞周囲で、骨細管に沿った局所で脱塩反応が起こっている。

■コメント■

皮質骨内の脱塩反応の実態を特殊な断層撮影で解析した。破骨細胞ではなく、骨細胞が樹状突起を微細構造内



【図】骨細管に沿った矢状断像(Dは断面のシェーマ)。Aはトルボット非焦点マルチスキャン断層像。*は骨細胞小窩。Bは非焦点コントラスト像。皮質骨内で骨細胞が、骨内膜側から骨周膜に向け一定の方向に樹状突起を伸ばす。Cは骨細管周囲の骨塩量を定量化したもので、樹状突起を中心にV字の低骨塩領域がある。

に伸ばし、皮質骨内の脱塩に寄与する事が、詳細な形態観察で明らかとなった。脱塩反応には極在性があり、last figureでは、骨細管周囲で骨周膜方向に向かい脱塩が進み、再石灰化のフィードバックがかかるモデルを提唱した。ただし *in vivo* で時系列を追った解析はできておらず、仮説に過ぎない。

皮質骨内の微細構造内の骨破壊が観察できた。今後、骨細胞による皮質骨破壊が新たな治療標的となる可能性がある。

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻整形外科 岡田 寛之

骨細胞特異的な *Mbtps1* (*Pcsk8*, *S1p*, *Ski-1*) 欠損により，成体におけるヒラメ筋の再生が促進され，筋の大きさと収縮力は増加する

Deletion of *Mbtps1* (*Pcsk8*, *S1p*, *Ski-1*) gene in osteocytes stimulates soleus muscle regeneration and increased size and contractile force with age

Gorski JP, Huffman NT, Vallejo J, Brotto L, Chittur SV, Breggia A, Stern A, Huang J, Mo C, Seidah NG, Bonewald L, and Brotto M

The Journal of Biological Chemistry 291 : 4308-4322, 2016

© 2016 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

背景

骨細胞は機械刺激を受容する細胞であり，筋の機能と再生を調節している。MBTPS1はゴルジ体に局在する膜結合型プロテアーゼであり，骨芽細胞と骨細胞における石灰化関連遺伝子の転写に必要である。MBTPS1の骨芽細胞と骨細胞における機能的役割は以前報告されているが，*in vivo*での役割としては未だ不明な点が多いのが現状である

方法と結果

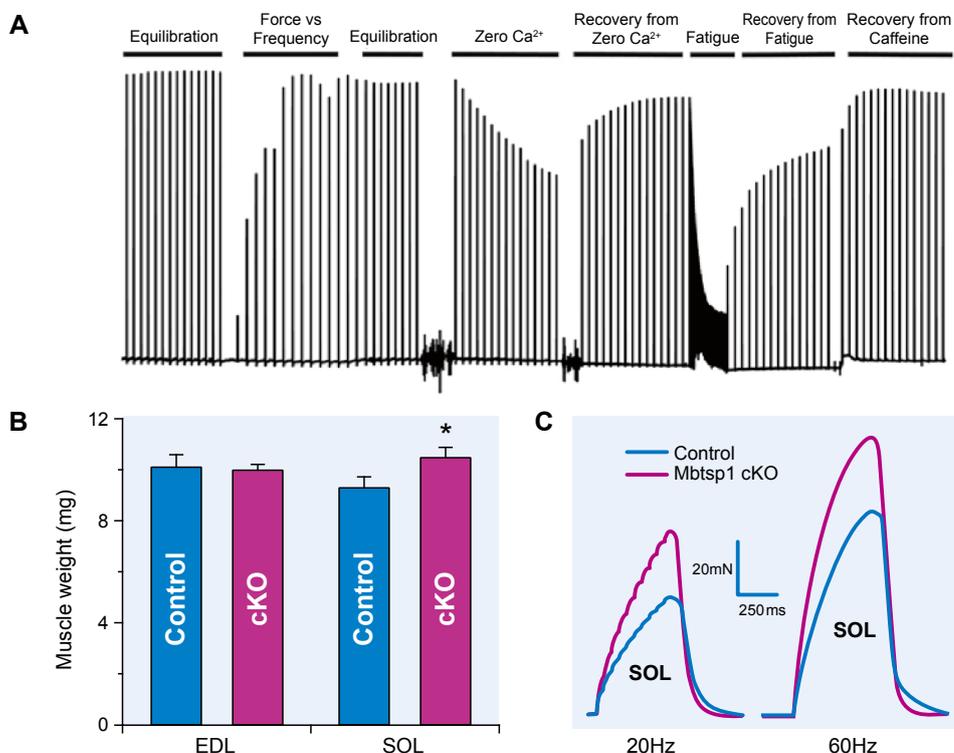
*Dmp1-cre*により骨芽細胞と骨細胞特異的に *Mbtps1* をノックアウトした (cKO) 40, 12週齢マウスを用いた。

40週齢のcKOマウスでは，骨は，定量PCRとWestern blottingの結果，*Mbtps1* mRNA発現が70%減少，

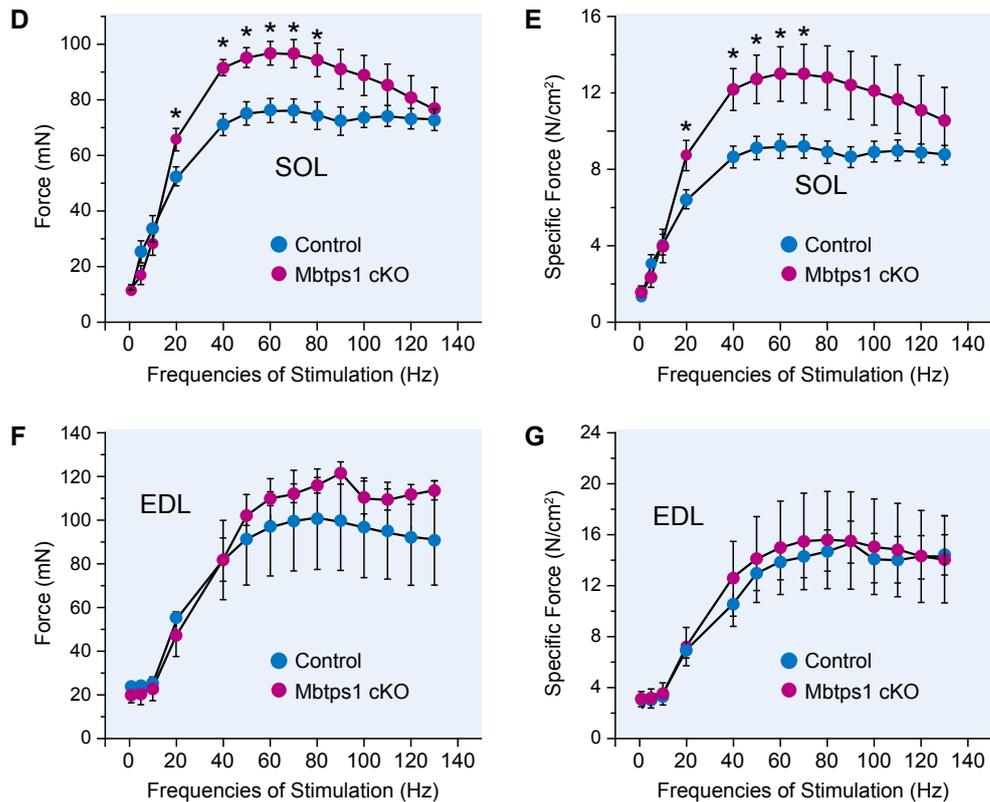
MBTPS1のタンパク質発現は著しく減少したが，ヒラメ筋と長指伸筋は，*Mbtps1*のmRNA，MBTPS1タンパク質発現ともに対照群と比較し有意差はなかった。

40週齢のcKOマウス骨格のmicroCT撮影と大腿骨の3点曲げ試験の結果，骨密度などのパラメーターは対照群と比較し有意差はなく，剛性は25%上昇した。

ヒラメ筋と長指伸筋で *ex vivo* で収縮試験を行った (図)。cKOマウスのヒラメ筋は，体積が12%大きく，収縮力が30%強く，対照群と同じ収縮力を誘発するのに高い周波数の刺激が必要とされたが，疲労時とカフェインに対する反応や，細胞外カルシウム欠損に対する反応の点で，対照群と比較して有意差はなかった。長指伸筋では，体積，収縮力，収縮力と刺激する周波数の関係，



【図】成体の *Mbtps1* cKO マウスのヒラメ筋は対照群と比較してサイズが大きく，強い収縮力を示す。A: *ex vivo* の筋収縮試験の代表的なデータ。長指伸筋 (EDL) とヒラメ筋 (SOL) は2つの白金電極の間に固定され，筋収縮を誘発するため非強縮性と強縮性の刺激を与えた (y軸，収縮力；x軸，時間)。B: 対照群と *Mbtps1* cKO のEDLとSOLの湿重量。C: 対照群 (灰色)と *Mbtps1* cKO (黒)マウスのSOLを *ex vivo* で刺激した準最大 (左)と最大 (右)の強縮性収縮



【図】 D: 刺激する周波数を1～130 Hzの範囲で上昇させた際の対照群と*Mbtps1* cKOマウスのSOLの収縮力 (millinewtons (mN)). E: Dを筋の断面積で標準化したSOLの収縮力 (newtons (N)/cm²). F: 1～130 Hzの範囲の周波数での対照群と*Mbtps1* cKOマウスのEDLの収縮力 (millinewtons). G: Fを筋の断面積で標準化したEDLの収縮力 (newtons/cm²). データは平均±標準誤差 (エラーバー) で示す。*は対照群と比較した有意差 ($p < 0.05$) を示す。

疲労時や細胞外カルシウム欠損に対する反応も対照群と比較し有意差はなかった。

cKOマウスは15～20週齢に急激に体重が増加するため、12週齢マウスのヒラメ筋を用いて収縮試験を行った。cKOマウスのヒラメ筋は、体積、収縮力、収縮力と刺激する周波数の関係、疲労時の性質の点で、対照群と比較して有意差はなかった。

40週齢マウスのヒラメ筋のHE染色と、ミオシン重鎖I, IIA, IIB各々に特異的な抗体を用いた免疫蛍光染色を行った。対照群では核は細胞の外側に位置し、cKOでは核が細胞の中心に位置 (対照群の6倍) し、ミオシン重鎖I陽性細胞の15.8%, ミオシン重鎖IIA陽性細胞の3%の計18%で核は細胞の中心に位置した。この差は12週齢では認められなかった。

観察された筋骨連関の分子メカニズムを解明するため、whole genome array (アレイを用いた包括的トランスクリプトーム解析) を行った。cKOマウスの骨では、骨細胞マーカーや筋に対する抑制因子などの遺伝子の発現が減少し、ヒラメ筋では、EGF受容体シグナル、日内運動、横紋筋の収縮、骨再生の生体マーカーである*Myh3*と*Myh8*, 出生後の筋再生に必要とされる*Pax7*,

*Myod1*や*Myog*, 脂質の酸化代謝, 解糖系を調節する経路の発現が上昇した。cKOマウスのヒラメ筋のアレイ解析の結果は、骨格筋再生時のそれと類似していた。

■結論

Dmp1-cre Mbtps1 cKOマウスは、遅筋であるヒラメ筋において*Mbtps1*や*cre*の発現には変化がなかったにも関わらず、加齢とともに収縮力と筋量の増加という表現型が現れ、ここから新しい筋骨連関の経路が示唆された。また、MBTPS1が成体において筋形成を抑制していることを明らかにした。

■コメント

MBTPS1は骨芽細胞と骨細胞における石灰化関連遺伝子の転写に必要であることが知られている。本論文は、MBTPS1の筋形成に対する役割と、筋骨連関の新しい経路を明らかにした興味深い研究である。加齢に伴う筋萎縮に対する新規の予防法や治療法の発見に繋げるために、さらなる筋骨連関の理解が必要である。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 田川 淳平, 中島 友紀

頭蓋顔面骨の発達，修復，再生に関わる縫合間充織の幹細胞

Stem cells of the suture mesenchyme in craniofacial bone development, repair and regeneration

Maruyama T, Jeong J, Sheu TJ, and Hsu W

Nature Communications 7 : 10526, 2016

© 2016 Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

■背景

縫合間充織は，頭蓋冠の成長中枢かつ幹細胞ニッチの役割を果たす。遺伝子調節異常は頭蓋骨癒合症を始め顔面奇形を引き起こし，審美機能障害に繋がる。また，癌や外傷による損傷の再建に自己・同種・無機材料移植が行われるが，課題が多く，幹細胞移植が期待される。しかし，縫合間充織幹細胞の見識は未だ乏しい。Axin2は縫合部癒合に伴い発現が低下し，欠損で頭蓋癒合症を生じる。Axin2は頭蓋縫合間充織の維持に重要で，発現細胞を幹細胞集団 (SuSCs) として分離同定している。

■方法と結果

A. 縫合間充織からの SuSCs 分離

細胞周期休止期細胞は生涯の組織維持に重要である。EdU 標識を行うと，縫合間充織のほとんどにラベル保持細胞を認めるが，4週間後正中部のみとなる。一方 Axin2^{GFP} モデルで，GFP は早期癒合する前頭縫合後方部を除くすべてに発現し，EdU の発現と一致した。更に，有糸分裂マーカー Ki67 で標識した細胞は，Axin2 発現細胞の周囲にあって Axin2 を発現しない。つまり，Axin2 細胞は細胞周期が遅い細胞と言える。

B. Axin2 発現細胞の自己再生性と分化能力

Axin2^{Cre-Dox}, R26RlacZ 遺伝子改変マウスモデルで細胞トレーシング解析を行った。頭蓋骨形成が完了する P28 に細胞標識を行うと，Axin2 発現細胞は間充織で増加し，1年後には縫合骨板部に進展，長期に減数しない。一方，長管骨で lacZ 陽性細胞は検出されず，Axin2 は長管骨幹細胞マーカーとは異なる。骨芽細胞や骨細胞マーカーである Osx と Sost を同時標識すると，始め Osx 陰性だが3ヵ月後に発現を認めた。この細胞集団を新たに，頭蓋冠の健全な維持を司る SuSCs とした。

C. 損傷修復における SuSCs

組織損傷修復に成体幹細胞が重要である。骨再生における Axin2 発現細胞の役割を損傷修復モデルで検討するため，B の解析を用いて，P30 マウスの右頭頂部に 1.4mm マイクロドリルで孔を開け観察した。手術後4週間で，周囲に lacZ 陽性細胞が進展し，Osx と Sost で同時標識され

た Axin2 発現細胞が骨形成に関与することが分かった。

D. SuSCs の再生能力

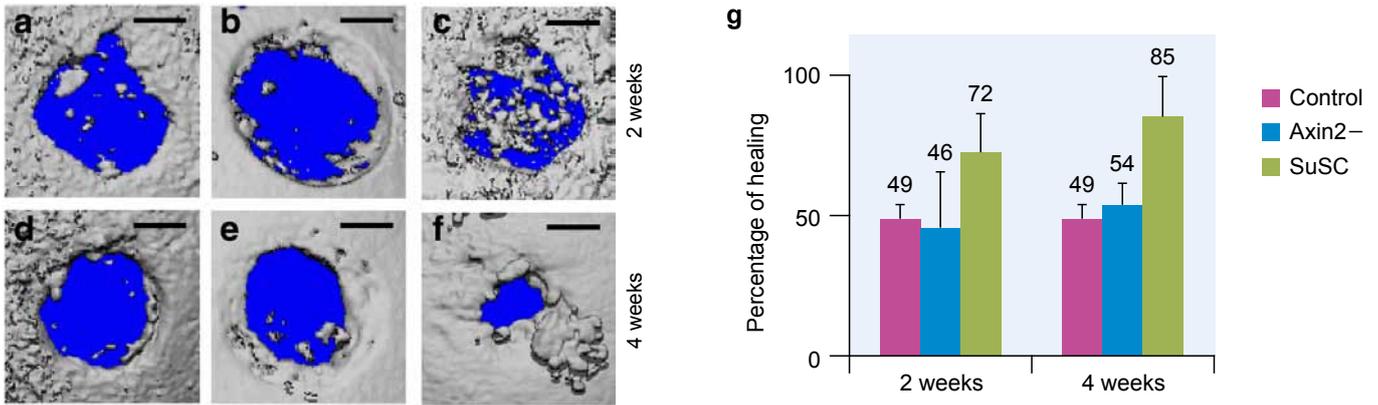
骨再建応用の可能性を移植実験で検討した。P28 の縫合間充織分離細胞を腎内に移植し6週間後観察すると，SuSCs による骨形成を認めた。異所性骨は膜性骨を呈する。その起源を B のモデルで検討すると，骨芽細胞や骨板中の骨細胞は β -gal 陽性で，異所性骨は Axin2 発現細胞由来であった。更に，Axin2^{GFP} マウスから分離した GFP 陽性/陰性細胞を移植すると，陽性細胞でのみ骨形成が観察された。また Axin2 発現細胞と骨髄由来骨幹細胞の違いについて，各種骨髄由来骨幹細胞マーカーの遺伝子発現を比較すると，Lepr を除くいずれも変化しなかった。

E. SuSCs の幹細胞としての特性

Axin2 発現細胞の異所性骨形成能は幹細胞の性質を示す。B のモデルでコロニー形成は，70% が Axin2 発現細胞によるもので長管骨の分離細胞は2%に満たない。更に，単一細胞由来か検証するため，Axin2 発現細胞が種々の蛍光色にランダム標識される R26Rconfetti マウスを用い，移植3週間後に蛍光顕微鏡で観察した。また限界希釈法で，骨再生の成功度を測定し幹細胞の存在頻度を検討した。クローン増殖は明らかで，骨形成は移植細胞数が 10^2 個以下で観察されず 10^4 個以上で安定し，SuSCs が0.13%と計算された。縫合間充織の軟骨化は，頭蓋骨癒合症を引き起こす。BMP2^{+/-} で移植7日後に観察すると，添加下で軟骨形成を認め石灰化は認めず，非添加下で石灰化のみを認めた。BMP2 は，骨から軟骨への分化転化を可能にし，SuSCs はその潜在性を有することが示された。

F. 直接移植による SuSCs の骨治癒促進作用

間葉系幹細胞は治療応用が広く検討され，SuSCs にも期待が寄せられる。現在，間葉系幹細胞移植は細胞生存性の問題などから短期間の効果しか報告されていない。C のモデルを用いて，縫合間充織分離細胞を損傷部位に移植し，手術2～4週間後の修復状態を検討した (図)。 β -gal 陽性でこの再生骨は SuSCs によるものであった。



【図】 P30の *Axin2^{Cre-Dox}; R26RlacZ* マウスの頭頂部に径1.4mmのマイクロドリルで孔を開け, 2週間後と4週間後にその骨による修復具合を観察. a,dはコントロール, b~fは縫合間充織を移植したものだが, b,eは *Axin2⁻*細胞, c,fは *Axin2⁺*細胞 (SuSCs)である. SuSCsを移植したもので顕著な治癒経過を認めた. (Scale bar: 500 μ m, n=3, mean \pm s.e.m.; *P* value<0.05, Student *t*-test)

■結論

今回同定されたSuSCsは, 頭蓋顔面の形態形成に重要で, 複雑な先天異常の原因解明に繋がる。また, 生涯クローン増殖できる自己再生性と, 頭蓋冠の成長と恒常性維持を行う分化能を有する。細胞療法による損傷修復や骨再生に幹細胞として有用で, 再生医学に一石を投じるものである。

■コメント■

膜性骨化特異的な幹細胞を分離し, その特性と内軟骨性骨化に関わる骨髄幹細胞との違いを明らかにしている。頭蓋顔面骨損傷における移植治療は, 組織定着など課題が残されているが, この細胞分離が光を灯してくれると期待したい。

東京医科歯科大学分子情報伝達学 矢原 寛子, 中島 友紀

Bone & Joint Research Update No.60 : PDF magazine

2016 年 8 月 24 日版

制作・発行 国際医学出版株式会社

IMP@imp-kokusaiigaku.com

<http://www.imp-kokusaiigaku.com/>

impepdf-bjru002

本文目次